

ФЕЛИКС Д'ЭРЕЛЬ.

**ПОЧЕТНЫЙ ПРОФЕССОР ФАКУЛЬТЕТА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК ТИФЛИССКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА.**

БАКТЕРИОФАГ
И
феномен выздоровления

Издательство Тифлисского Государственного Университета.

Тифлис—1935.

Ныне никто не вправе сомневаться в том, что социология представляет собой стройную научную дисциплину; базисом для окончательной проверки ее научных выводов—может служить лишь опыт реального общественного развития.

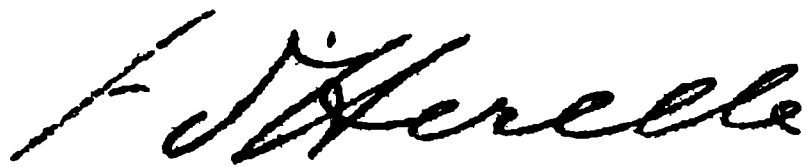
Работников науки можно разделить: на философов (нередко, предтеч реального знания) и ученых в тесном смысле этого слова, терпеливо, камень за камнем складывающих величественное здание экспериментальной науки.

Но „экспериментальный“ не означает еще „непогрешимый“: и опыт может вести по ложному пути; лишь достигнутый результат является верховным мерилем правильности или ошибочности избранного экспериментального приема.

Для лица, посвятившего свою жизнь экспериментальной медицине, таким результатом должно быть: довести до минимума сумму физических страданий человека; для борца, посвятившего свое существование науке об общественном развитии, целью служит: довести до кульминационного пункта благосостояние и счастье всего человечества, освободить его от вековых пут нищеты и невежества.

И в одном, и в другом случае—лишь практический результат может непреложно установить правильность намеченного пути.

Эту книгу, резюмирующую двадцать лет исканий новых путей в медицине, я посвящаю тому, кто, руководясь непреодолимой и беспощадной логикой истории—строит на совершенно новых началах человеческое общество и довел свою задачу до такой высоты, до такой решающей грани, что беспристрастный наблюдатель не может уже сомневаться в конечном результате: я посвящаю ее тов. СТАЛИНУ.



Печатается по распоряжению ректора Тифлисского
Государственного Университета, профессора Л. С. АГНИАШВИЛИ.

Корректор В. Эльснер.
Тираж 4.200.
Зак. № 54.
Уполн. Главлита, № 3-22.

Сдано в произв. 26-II—1935 г.
Подпис. к печати 5-III—1935 г.
Станд. бум. 72 x 105; 7 x 11.

Типография Издательства Тифлисского Государственного Университета.
Университетская, № 1.

ПРЕДИСЛОВИЕ.

Эта обзорная и обобщающая работа является третьей, по порядку, которую я пишу о бактериофагии.

В первой, опубликованной в 1921 г.¹, в ту пору, когда к явлению, изучавшемуся мною уже ряд лет, только начинало привлекаться внимание научного мира—я излагал лишь результаты моих собственных изысканий.

Во втором труде², я объединил весь опубликованный к тому времени фактический материал и подверг его критическому разбору.

С тех пор, количество исследований, относящихся к проблеме бактериофагии чрезвычайно разросло; общее число оригинальных работ превышает четыре тысячи, но какое значительное количество среди них представляет лишь сомнительную ценность!

Я не задавался целью, в настоящем труде, конденсировать это множество противоречивых документов, что могло-бы лишь затуманить основные очертания излагаемой проблемы и имело бы интерес (к тому же, в большинстве случаев, ретроспективный) лишь для нескольких десятков специалистов.

Наоборот, мне казалось желательным изложить с возможной простотой и ясностью современное состояние вопроса бактериофагии, с таким расчетом, чтобы эта книга могла быть прочтена не только чистыми бактериологами, но и, преимущественно, гигиенистами, инфекционистами и терапевтами.

В первой главе дается очерк того заболевания бактерий, которое названо мной—бактериофагией; во второй, трактуется о свойствах и природе фактора, вызывающего это заболевание.

Феномен бактериальных мутаций, возникающих в качестве одного из возможных последствий бактериофагии, представляет собой наименее изученную и наиболее сложную проблему среди

¹ „Le Bacteriophage, son role dans l'immunité“. Монография Пастеровского Института, I том (6) 277 стр., изд. в Париже. Переведено на русский, английский, немецкий и голландский языки.

² „Le Bacteriophage et son comportement“, I том, 552 стр. Париж. 1926 г. Переведено на английский язык.

задач, стоящих перед исследователем интересующего нас вопроса; я посвятил его систематическому изучению четыре последних года.

Третья глава содержит развернутое изложение проблемы мутаций в бактериальном мире; она по необходимости касается ряда методических и технических моментов.

С самого же начала, вопрос о поведении бактериофага в живом организме или, другими словами, вопрос о причинной связи, существующей между наличием бактериофага и наступлением выздоровления при инфекционном заболевании—казался мне капитальным вопросом, краеугольным камнем проблемы.

Мной были, в этих целях, произведены многолетние, упорные изыскания в Европе, Америке, Африке, Индии, на Дальнем Востоке, куда я направлялся в поисках массовых инфекционных заболеваний человека и животных, практическое, живое ознакомление с динамикой которых могло помочь мне углубить изучение поставленной пред собой задачи.

Чтобы претендовать на приемлемость, всякая теория иммунитета (как и всякая иная естественно-научная теория) должна пройти через горнило экспериментальной проверки; это элементарное правило в области учения об иммунитете, не всегда соблюдалось в полной мере, если не считать теории Беринга об антитоксическом иммунитете, неопровержимо доказанной рядом безупречных экспериментов и многими годами практического применения ее выводов.

Если теория выздоровления, внушенная мне изучением хода эпидемий и эпизоотий, возникающих в естественных условиях, правильна, то мы должны суметь воспроизвести естественный процесс выздоровления от инфекционных заболеваний и в рамках эксперимента; работы, осуществленные в этом направлении, приводятся в пятой главе настоящего тома.

В виду того, что книга может быть прочтена и известным количеством врачей—практиков—я счел нужным подробно изложить вопрос о бактериофаготерапии, что позволит врачам применять это средство, завоевывающее все большую роль в области лечения инфекционных заболеваний,—с полным знанием дела.

В шестой главе излагаются опыты, проведенные за время различных эпидемий и показывающие, что возникновение, нарастание и исчезновение эпидемий зависят от степени рассеивания, в окружающей среде, болезнетворных зародышей, возбудителей инфекций,—с одной стороны—и бактериофагов, виновников выздоровления—с другой; что выздоровление, короче говоря, также „заразительно“, „контагиозно“, как и сама болезнь.

Наконец, в седьмой главе приводятся доказательства в пользу того, что, помимо возможности воспроизведения естественного процесса выздоровления больного организма, имеется возможность воссоздать, по воле экспериментатора, и естественный процесс угасания эпидемий.

Цикл мне кажется завершенным: несомненно, остается еще не малое поле для изучения деталей и модальностей интересующей нас проблемы; но я позволяю себе думать, что уже сегодня, вопрос о сущности бактериофага и об его поведении в природе—в главных чертах, окончательно выяснен.

С обще-философской точки зрения, мне казалось не лишним интереса отметить, что, если отвлечься от внешних форм проявления жизни—единый закон лежит в основе жизненных процессов, касается ли это человека, микробной клетки или бактериофагной частицы.

Эпидемия имеет исходной движущей причиной рассеивание в среде болезнетворного микроорганизма, размножающегося там, где он может проявить свою способность к ассимиляции, т. е. в организме чувствительного к нему животного; спадение эпидемической кривой объясняется тем, что фильтрующийся вирус, бактериофаг, будет размножаться там, где он сумеет проявить свою ассимиляционную способность, т. е. внутричувствительной к нему бактериальной клетки.

История эпидемий и история в прямом смысле этого слова могут быть изучаемы при помощи аналогичных методов.

Сказанное не должно показаться чем то необычайным человеку, привыкшему осмысливать окружающее: основная характеристика живой материи, протоплазмы, это—способность к ассимиляции, откуда исходят все остальные свойства живой субстанции; ясно, что все биологические явления могут рассматриваться, как имеющие в основе этот фундаментальный акт.

Пусть читатель извинит некоторое отвлечение от непосредственного предмета изложения; но мне кажется, что биолог, занятый изучением человека или микробов, социологии или иммунитета—всегда должен иметь в виду лежащий в основе изучаемых им явлений—акт ассимиляции; таков был метод моей работы.

Эта книга, в которой я излагаю результаты двадцатилетних моих изысканий—представляет оригинальную работу; она, только что, по просьбе Ректора Тифлисского Государственного Университета, написана мной в Тифлисе и мой дорогой друг, Г. Г. Элиава любезно взял на себя труд перевода ее на грузинский и русский язык.

Я написал ее для ученых СССР, этой замечательной страны, которая, впервые в истории человечества, избрала себе путеводительницей не иррациональную мистику, а трезвую науку, вне которой нет логики и не может быть истинного прогресса.

Но не будем упускать из виду, что если наука есть высочайшая логика—ученые, посвятившие себя науке, могут заблуждаться и создавать мнимую науку, построенную на заблуждениях.

Когда говорят от имени „экспериментальной науки“, то кажется естественным склониться, безоговорочно, перед полученными ею результатами, т. к. опыт, произведенный в соответствующих условиях неоспорим и должен иметь абсолютную ценность.

Однако, это не всегда так; если истинно, что в физических науках существует лишь один „экспериментальный метод“ ~~то в на-~~уках биологических (и медицинской в частности), существует два подхода к производству экспериментов: один—из них приводит к построению реального знания, а другой—стремится, основываясь на ложном базисе, строить знание призрачное.

Возьмем, в качестве примера, иммунологию, которую можно рассматривать, как основную медицинскую дисциплину.

Два метода могут быть избраны для изучения реакций организма, возникающих в ответ на проникновение в него болезнетворных зародышей. Первый заключается в том, чтобы, ограничив себя искусственными рамками лаборатории,—прививать морским свинкам и кроликам различные дозы микробных культур (скажем, культур холерного вибриона) и констатировать изменения, возникающие в организме лабораторных животных в ответ на эти искусственные манипуляции.

Такие-же опыты повторяются и с другими свинками и с другими кроликами, которых подвергают инфекциям культур, наприм., брюшнотифозной палочки или иных микроорганизмов, патогенных, в естественных условиях, для человека, но не для взятых в опыт животных.

Сотни ученых работают по приведенной схеме и весь накопленный подобным путем опыт подытоживается в дисциплине, называемой „учением об иммунитете“ или иммунологией. Я считаю необходимым отметить, что все эти работы могут быть проведены добросовестнейшим образом и что полученные учеными результаты могут быть реальными, представляющими теоретический интерес и имеющими действительную ценность, только не в том плане, в каком это принимается авторами.

Так как все заболевания, изучаемые означенными авторами, были „искусственными“ заболеваниями (ни кролик, ни свинка—не

болеют в естественных условиях ни холерой, ни брюшным тифом), не имеющими зачастую, никакой связи с протекающими в естественных условиях болезнями—указанными учеными построена своеобразная „имунобиология“, правильная в своих выводах в отношении „искусственных заболеваний“ лабораторных животных и совершенно беспомощная, когда она берется давать заключения в отношении естественных заболеваний, единственных, представляющих реальный, практический интерес.

Но то, что представляет сугубую важность—это привычка к обобщениям, имеющим в основе искусственные эксперименты и, поведшая к применению, при заболеваниях человека, профилактических и лечебных мер, не имеющих (в чем чрезвычайно легко убедиться) никакой ценности при заболеваниях естественных; применение этих фиктивных защитных мер тем более опасно, что оно создает иллюзию безопасности и вызывает задержку в изысканиях и применении действительных мер защиты от инфекционных заболеваний.

Второй экспериментальный метод заключается в том, чтобы изучать заболевание в его естественных условиях возникновения и развития, в его природных рамках.

Чтобы установить причину излечения от азиатской холеры—надо направиться в область эпидемического распространения этой болезни и изучать, в естественных условиях, изменения, возникающие в организме человека, переболевшего холерой. Если желать убедиться в том, каков, в действительности, процесс и ход выздоровления от чумы—нужно изучать это заболевание на месте его естественного возникновения, в чумном очаге.

Тем-же путем нужно действовать в отношении всех острых инфекционных заболеваний человека и животных, способных помочь науке сорвать покрывало с естественного процесса выздоровления.

Оба указанных метода, с одинаковым правом, могут быть названы экспериментальными; но я позволяю себе думать, что лишь второй из них логичен, целесообразен и позволяет построить реальную, дающую точное отображение динамики инфекционных процессов в природе, иммунологию.

Я был бы счастлив видеть всех гигиенистов и врачей СССР в числе сторонников реального экспериментального метода, метода революционного, т. к. он нарушает воцарившиеся традиции и опрокидывает узаконившиеся привычные взгляды; этот метод не всегда легко осуществим; часто он ставит под прямую угрозу самую жизнь экспериментатора, но нельзя считаться с этим, раз истина может быть добыта подобной ценой.

Смею надеяться, что моя книга может быть некоторым стимулом к ориентации на новые эпидемиологические воззрения: это мне кажется тем более желательным, что эра возрождения и неслыханного расцвета науки должна открыться в Советском Союзе: лаборатории, предназначенные для биологических изысканий, возникают повсюду в вашей огромной стране, научная жизнь все более и более интенсифицируется, тогда как в капиталистических странах она имеет растущую тенденцию к замедлению: науку обрекли быть первой жертвой мирового экономического кризиса.

Раз я начал говорить о заблуждениях в науке, то да будет мне позволено довести мою мысль до конца. К тем заблуждениям, которые возникают из самого факта применения иррационального экспериментального метода—добавляются ошибки, возникающие в результате неточного экспериментирования. Спешу добавить, что в подавляющем большинстве, опубликование ошибочных экспериментальных заключений зависит не от недобросовестности авторов, но от недостаточного экспериментального навыка, от недостаточной экспериментальной тренировки и от слишком поспешной публикации мало проверенных наблюдений.

Эта последняя из указанных причин экспериментальных ошибок является следствием ныне принятого способа оценки научного работника: при оценке принимается во внимание не только качество, но и количество опубликованных трудов; научный работник вынуждается к быстрому написанию и частой публикации работ. Увы, достаточно перелистать любое из выходящих во всем мире периодических научных изданий, чтобы убедиться в том, к чему это ведет.

Вот язва, на радикальное излечение которой следовало-бы обратить внимание: в научной работе должно подлежать расценке только ее качество; в государстве, правильно организованном, повторное напечатание экспериментальных ошибок должно было бы повлечь за собой дисквалификацию автора.

Изложенное приводит меня к констатированию, что сейчас во всем мире нет учреждения, специальной целью которого была бы борьба с экспериментальными заблуждениями; этот Институт был бы занят контролем соответствия действительности опытов, претендующих на всеобщее значение и безжалостно опубликовывал бы результаты своей проверки.

Подобная мера могла-бы вынудить большую часть авторов, ныне чрезмерно торопливых, быть осторожнее в своих заключениях и помогло-бы прекращению того состояния анархии, которое

тормозит развитие науки и может подорвать доверие к ней в массах.

В то же самое время, подобное учреждение могло бы проводить углубленные анкеты по поводу применяющихся ныне мер профилактики и установило бы их действительную ценность.

СССР является, ныне, единственной страной, которая сможет дотировать мир Институтом Контроля Экспериментальных работ, т. к. только в ней обследования могли бы быть проведены в обстановке абсолютного нелицеприятия.

Только в Советском Союзе можно, без боязни оскорбить привычные, имеющие права давности, заблуждения, осудить освященные временем ошибочные методы профилактики: новый социальный порядок вправе позволить себе ревизию всего того, что им получено в качестве наследия от прошлого.

Тифлис, 9 февраля 1935 г.

Бактериофаг в его взаимоотношениях с явлением выздоровления при инфекционных заболеваниях.

Г Л А В А I.

Явление бактериофагии.

1. ЧАСТЬ ИСТОРИЧЕСКАЯ.

Феномен бактериофагии в такой степени распространен в природе, что кажется необъяснимым, почему в старой бактериологической литературе можно найти лишь ничтожное количество работ, в той или иной мере упоминающих об явлениях сходного порядка. Пересмотр всей специальной литературы позволяет остановиться лишь на следующих работах, касающихся, в той или иной степени, интересующего нас вопроса.

В 1892 г. Крузе и Пансини (Kruse und Pansini) описывают автолиз пневмококка;

В 1896 г. Ханкин (Hankin) констатирует, что вода некоторых рек Индии обладает способностью растворять холерные вибрионы; в 1897 г. Эммерих и Лев (Emmerich und Löw) сообщают, что фильтраты старых культур могут, при определенных условиях, которых впрочем, они не определяют точнее, вызывать растворение молодых культур. Эти опыты подверглись резкой критике Мечникова. Критические замечания Мечникова остались без ответа, вероятно, в силу того, что указанные авторы не могли установить условий возникновения явления, которое ими было подмечено случайно.

В 1904 г. Эйкман (Eijkman), а вслед за ним ряд других бактериологов—изучают действие фильтратов старых культур разнообразных микробов на культуры юные:

В 1915 г. Творт (Twort) изучает феномен, состоящий в трансформации агаровой культуры белого стафилококка, изолированного из дженнеровской вакцины, в аморфную стекловидную массу и убеждается в том, что это явление воспроизводится беспредельными рядами: Принимая во внимание своеобразное течение этого явле-

ния, по сравнению с типичным феноменом бактериофагии, можно было сомневаться в их тождественности. Однако, Грациа (Gratia), в результате десятилетних изысканий, обнаружил штамм белого стафилококка, претерпевающего стекловидное перерождение, попутно с типичными проявлениями бактериофагии: лизисом в жидкой среде и образованием т. н. „негативных колоний“.

В том же 1915 г. Гильдемейстер (Gildemeister) описал своеобразные изменения в некоторых штаммах кишечной палочки (flatterformen), которые, в дальнейшем, были признаны проявлениями бактериофагии.

Но авторы, наблюдавшие эти разрозненные факты, не продолжали систематического их изучения, не смогли пролить света на природу явления, встреченного ими, в силу ли того, что случайное наблюдение не могло быть ими воспроизведено по желанию, или в силу того, что ими не было осознано огромное значение того процесса, свидетелями которого они явились.

Впрочем, рядом с авторами, опубликовавшими свои наблюдения, многие, гораздо более многочисленные, не оповещали о них в печати. Так, например, Хавкин (Haffkine) во время своей работы над чумой в Индии, отмечал неоднократно, что бульонные культуры чумных палочек „исчезают“ и среда становится снова прозрачной; в его лаборатории говорилось, что такого рода культуры „кончали самоубийством“ Пинуа (Pinou), которому было поручено в начале всемирной войны изготовление противотифозной вакцины в Марокко, обнаружил в одном из штаммов, предназначенных для изготовления тифозной вакцины „негативные колонии“ („plages vierges“) точно округленной формы.

В 1917 г., Элиава (Eliava) встречается, во время исследования воды реки Куры на присутствие холерного вибриона, со следующим фактом: посев воды на основной пептонный раствор дает начало, в течении первых часов, образованию микробной пленки; проверка на сухих окрашенных препаратах позволяет установить наличие морфологически типичных вибрионов; но высев пленки на агар—не дает видимого роста; холерные вибрионы „исчезли“; только, на месте произведенного засева, поверхность агара теряет свой обычный блеск, кажется матовой.

Я полагаю, что большое количество внимательных наблюдателей должно было встретиться с аналогичными фактами.

В 1908 г. я обнаружил в Мексике инфекционное заболевание саранчи (*Schistocerca peregrina*), вызываемое коккобациллом, которым переполнен кишечник больных насекомых. Распластывая, на чашках с агаром, содержимое кишечника больных экземпляров са-

ранчи, я обнаружил, в целом ряде случаев, особенности во внешнем виде культур, испещренных заинтриговавшими меня стерильными пятнами (*plages vierges*); к несчастью, мне не удалось вторично воспроизвести это явление по своей воле.

В 1915 г., во время всемирной войны, мне было поручено выяснение источника эпидемии бациллярной дизентерии, вспыхнувшей в кавалерийском полку, расположенном в окрестностях Парижа. В посевах от больных, я снова натолкнулся на это своеобразие внешнего вида культур, испещренных пятнами; но тут мне довелось методически продолжать эти исследования, обследуя больных; находящихся на излечении в больнице Пастеровского Института; на эксквизитных случаях бациллярной дизентерии—я, наконец, сумел уяснить себе природу явления, которому в дальнейшем посвятил ряд лет непрерывного труда.

Настоящая работа резюмирует 18 лет работы, проводившейся в Европе, Азии, Африке и Америке, в поисках инфекционных заболеваний и эпидемий, изучение которых, по моему мнению, могло повести к движению вперед, по пути разрешения задачи, поставленной мной перед собою.

Первая сводка моих работ, посвященных изучению явлений бактериофагии, была опубликована в 1917 г., но лишь начиная с 1921 г. факты, указанные мною, начали привлекать к себе внимание изыскателей; с тех пор, работы касающиеся этого вопроса (не всегда равноценные) беспрерывно умножаются, так что количество оригинальных работ, опубликованных по вопросу о бактериофагии, превышает в настоящее время 4.000.

Должен сказать, что каждый из фактов, которые мною были обнаружены, каждая из теорий, которые мною выдвигались для объяснения этих фактов, подвергались вначале резкому обсуждению и критике. Но я разрешаю себе констатировать с удовлетворением, что, мало по малу, критические голоса умолкают, что некоторые факты уже теперь стали классическими и что формулированные мною теории принимаются все большим числом ученых, т. к. по моему убеждению они отвечают достаточному и необходимому условию для признания научной теории правильной: теория должна быть в согласии со всеми наблюдаемыми фактами и не опровергаться ни одним из них. Что же касается (в частности), того, что я считаю наиболее существенным, т. е. вопроса о связи, существующей между действием бактериофага на микробов и явлением выздоровления при инфекционных заболеваниях, а также возможности экспериментального воспроизведения процесса естественного выздоровления, равно как и процесса естественного прекращения эпиде-

мий—то современное состояние этой проблемы было изложено мной недавно в Риме, на конгрессе, посвященном памяти Вольты. На этом конгрессе, собравшем крупнейших иммунологов современности, заслушивание моего доклада не вызвало никаких принципиальных возражений со стороны присутствующих, что позволяет мне вывести заключение, что и эта часть, сегодня кажущаяся несколько смелой, в скором времени будет признана как нечто, незыблемо установленное. В настоящей работе, я не намереваюсь дать полного изложения всех вопросов бактериофагии; в 1926 г. мною написан детальный труд, насчитывающий 600 страниц; в настоящее время, подробное изложение всех сторон проблемы бактериофагии не уместилось бы и на тысяче страниц; поэтому, я ограничусь чрезвычайно сжатым изложением основных вопросов, оставляя в стороне дискуссионную часть, которая, к тому же, принимает все более и более исторический характер.

2. БАКТЕРИОФАГИЯ.

Изберем в качестве примера бактериофагию холерного вибриона. Возьмем несколько капель кишечного содержимого выздоравливающего холерного больного и эмульгируем их в двадцати куб. сант. бульона, профильтруем через бактериоудерживающую свечу любой марки, но предпочтительнее через Шамберлана.¹

Подобный фильтрат стерилен и, разлитый в стерильные ампулы, а вслед затем запаянный—может сохраниться стерильным бесконечно долгое время.²

¹ С точки зрения самого акта фильтрации все бактериоудерживающие свечи одинаковой порозности, совершенно равноценны, но с точки зрения монтажа свечей и экономии их применения наблюдается резкая разница. В отношении монтажа я полагаю, что единственный, позволяющий проводить все операции в условиях абсолютной асептики—это монтаж Мартэна, потому что при нем исключены всякого рода соединения при помощи каучуковых трубок или пластин.

Свеча Шамберлана чрезвычайно удобна для подобного монтажа, кроме того, свеча Шамберлана является единственной, регенерирующей при температуре в 600° Цельсия; вследствие этого, одна свеча может служить для производства многих сотен фильтраций и после регенерации—она равноценна совершенно новой свече; отсюда вытекает значительная экономия для лаборатории.

² Привожу более подробную технику изолирования бактериофагного начала, исходя из испражнений реконвалесцента. Взять 1 к. с. испражнений, если они жидки, или приблизительно 1 грамм, если они в твердом состоянии, эмульгировать в 20 к. с. бульона, РН которого равен 7,6—7,8, поместить эмульсию в термостат при 37° в течение от 14 до 24 часов; затем—профильтровать сначала через бумажный фильтр, покрытый слоем инфузорной земли (что облегчит последующую фильтрацию через свечу). (См. примечание к § 5 настоящей главы), а затем провести через свечу Шамберлана.

Возьмем, затем, молодую культуру холерного вибриона, в которой еле намечается легкая опалесценция. К этой культуре прибавим одну каплю фильтрата, о котором шла речь—и поместим в термостат при 37°. Если мы будем исследовать, время от времени, нашу культуру, то мы обнаружим, что, вначале, она прогрессивно мутнеет, а затем, в срок, варьирующий между часом и тремя, мутность перестает нарастать и наступает противоположный процесс просветления, все более и более интенсивно выраженный, пока, наконец, среда не проясняется полностью и не становится такой же прозрачной как и стерильный бульон до засева. Все вибрионы в среде исчезли и растворились, „как сахар в воде“.

Такого же рода опыт можно воспроизвести с фильтратами, материалом для которых послужили испражнения бациллярного дизентерика, брюшнотифозного больного, больного с любыми кишечными расстройствами, в случае если они находятся в стадии реконвалесценции; фильтрат будет обладать способностью растворять дизентерийную палочку, или тифозную палочку, или любого микроба, виновника заболевания, перенесенного реконвалесцентом.

Но указанное явление носит еще более широкий характер: возьмем каплю сока бубона у реконвалесцента от бубонной чумы; эта капля содержит „принцип“, обладающий способностью растворять чумную палочку.

Этот феномен может проявляться с одинаковой яркостью не только при человеческих заболеваниях или при инфекционных заболеваниях животных (включительно до насекомых, как мне удалось констатировать при флашерии шелковичного червя), но и у растений; например из тканей, окружающих опухоли, вызываемые на некоторых растениях *b. Tumefaciens*, выделено начало, обладающее способностью разрушать эти бациллы; такой же принцип, но растворяющий *b. Radicicola* изолирован из тканей, окружающих клубеньки, образованные этим микробом на корнях бобовых растений). Несомненно, что мы имеем дело с явлением общего значения, с новым широким биологическим процессом.

Это растворяющее начало, впрочем, не является специально направленным против болезнетворных микробов: в кишечнике нормального человека можно обнаружить принцип, обладающий свойством растворять некоторые штаммы кишечной палочки и других микробов сапрофитной кишечной флоры.

Эти своеобразные начала могут быть обнаруживаемы не только в кишечном содержимом животных или в болезненно измененных участках их тканей. Эти „принципы“ рассеиваются испражне-

ниями во внешнюю среду, откуда их можно выделить. В силу этого, сточные городские воды чрезвычайно богаты различными лизирующими началами не только в отношении аэробных бактерий, но и бактерий анаэробных, как, например, столбнячные палочки, *B. perfringens* и т. д.

3. ЯВЛЕНИЕ БАКТЕРИОФАГИИ ПЕРЕДАЕТСЯ ИЗ ПРОБИРКИ В ПРОБИРКУ НЕПРЕРЫВНЫМИ РЯДАМИ.

Продолжаем пользоваться, в качестве примера, холерным вибрионом.

Мы получили, с помощью фильтрата испражнений реконвалесцента, полное растворение вибрионов, содержащихся в культуре, получившей дополнительно одну каплю фильтрата. Возьмем каплю этой, ставшей совершенно прозрачной, культуры: прибавим эту каплю к новой молодой культуре вибрионов—тот же самый феномен растворения проявится еще раз; спустя два или три часа после прибавления этой капли к новой, мутной культуре—все вибрионы второй культуры окажутся лизированными и среда снова приобретет первоначальную прозрачность; прибавим каплю из этой второй просветлившейся культуры, к третьей молодой культуре вибрионов—и вновь феномен растворения будет иметь место. Подобного рода „пассажи“ могут быть производимы беспредельно. После тысячного или двухтысячного пассажа капля, (и даже значительно меньшее количество, например, миллионная часть капли) просветленной первоначальной культуры, прибавленная к молодой культуре вибрионов, вызывает, за период времени, меньший чем два часа—полное растворение холерных вибрионов; жидкость приобретает полную прозрачность. Тот же самый феномен наблюдается по отношению к любой бактерии при наличии соответствующего растворяющего начала. Этот опыт приводит нас к неизбежному выводу, что растворяющий принцип возобновляется, регенирируется, воспроизводится—по мере осуществления им своего действия. Если бы дело обстояло иным образом, то не только при тысячном пассаже, но уже при десятом—растворяющее действие должно было бы совершенно истощиться, т. к. активный принцип, содержащийся в капле фильтрата испражнений выздоравливающего, был бы, в результате разведений, элиминирован; растворяющее действие фильтрата, начиная со 2 или 3 пассажа, становилось бы все более и более слабым и, наконец, достигнув предельной степени разведения, прекратилось бы совершенно. Но наблюдениями устанавливается обратное: при нормальном ходе явления, с увеличением количества

пассажей, действие литического агента становится все интенсивнее: после тысячного пассажа действие растворяющего начала в такой степени мощно, что разведение, содержащее одну миллиардную часть лизированной культуры, достаточно для растворения молодой, здоровой культуры соответствующего микроба. Значит, мы должны допустить, что растворяющий принцип регенерируется, воспроизводится в самом процессе лизиса.

Если вернуться к нашему примеру, получится следующее: то, что ранее было культурой вибриона, становится истинной „культурой растворяющего начала растворяющего вибриона“. Вот этому принципу, лизирующему бактерии и регенирующемуся в процессе своего действия, я и дал название, „бактериофага“.

4. УСЛОВИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ БАКТЕРИОФАГИИ.

Бактериофагия имеет место только при наличии живых бактерий. Критическим моментом для бактерии в смысле ее чувствительности к воздействию бактериофага, является момент ее деления; однако, даже и старые бактериальные клетки, при условии сохранения жизнеспособности, могут растворяться полностью под воздействием бактериофага.

Бактериофагия проявляется при всех температурах, совместимых с возможностью жизни бактерий. Это вытекает уже из того факта, что только живые бактерии могут быть атакованы бактериофагом. При 8—10 градусах бактериофагия протекает чрезвычайно медленно; она протекает в достаточной степени активно при температуре в 18—20 градусов, оптимальная же температура для явления бактериофагии колеблется вокруг 30°, хотя она имеет место и при 38° и даже при более высоких температурах (например, с некоторыми штаммами кишечной палочки я наблюдал чрезвычайно быстрый лизис при температуре в 44°).

Реакция среды имеет чрезвычайно значительное влияние на ход явления. В кислой среде, т. е. при РН, меньшем чем 7,0, бактериофагия протекает чрезвычайно слабо, а при РН—6,4—она совершенно перестает проявлять себя, (разумеется, в тех случаях, когда дело идет о штаммах бактериофага, не приспособленного искусственно к работе в условиях кислой среды).

Бактериофагия чрезвычайно активна в пределах РН от 7,2 до 8,0 (оптимум, 7,6—7,8); в слишком щелочных средах (РН больше чем 8,5) она совершенно не проявляется. Впрочем, эти цифры могут колебаться, до некоторой степени, в зависимости от рас бактериофага.

Что же касается самой среды, то обычный питательный бульон является совершенно подходящим для бактериофагии субстратом. Количество бактерий, взвешенных в среде, не должно быть слишком значительным. Мы увидим, что это число для различных бактериофагов является различным. При чрезвычайно активных бактериофагах, бактериальная культура, содержащая около миллиарда зародышей в к. с., может быть растворена полностью. Первоначальное количество бактерий, впрочем, не играет особой роли, если держаться границ, совместимых с тотальным лизисом (границ, варьирующих с вирулентностью рас бактериофага, пущенного в ход); в этих пределах, к среде возвращается первоначальная полная прозрачность.

Впрочем, имеет смысл не увеличивать чрезмерно густоты первоначальной бактериальной взвеси—во избежание риска понижения вирулентности бактериофага. При постановке практических опытов, наилучшая техника заключается в том, чтобы воздействовать бактериофагом на очень молодую бульонную культуру, представляющую еле заметную невооруженному глазу муть. Другой технический прием, также дающий хорошие результаты, заключается в том, чтобы брать в качестве исходного материала—14—18 часовую культуру микроба, на скошенном агаре; ее эмульгируют с двумя или тремя к. с. бульона и прибавляют капельку этой взвеси к пробирке с 10 к. с. бульона; таким образом, получается тончайшая бактериальная эмульсия из молодых микробов, вполне подходящих для бактериофагии. Как я указал на это ранее, можно, при помощи чрезвычайно сильных бактериофагов, получить полный лизис в гораздо более концентрированных эмульсиях, чем вышеуказанные, но практически невыгодно культивировать бактериофага в чрезмерно концентрированных бактериальных взвесях, так [как, чем больше количество инициальных микробов, тем легче могут найтись среди них устойчивые особи—явление, которое будет изучено нами в дальнейшем.

Можно поставить себе следующий вопрос: почему количество бактерий, могущих быть разрушенными бактериофагом,—ограничено?

А потому, что активность бактериофага тормозится, парализуется продуктами, возникающими в процессе его действия, что, впрочем, представляет собой общий закон. Всякая культура, очень активно растущая вначале, испытывает прогрессивно увеличивающуюся задержку в росте, по мере накопления в среде продуктов своего метаболизма и, наконец, вовсе перестает расти, когда концентрация этих продуктов доходит до критического пункта. В по-

следующем изложении я приведу доказательства правильности этого взгляда в области непосредственно относящейся к бактериофагии.

5. ТЕХНИКА ИЗОЛИРОВАНИЯ БАКТЕРИОФАГА.

Я указал выше методику изолирования бактериофага из кишечного содержимого реконвалесцента. Есть еще более простая техника. Понимается само собою, что бактериофаги, находящиеся в кишечном содержимом, рассеиваются во внешней среде с испражнениями. Сточные воды городов особенно богаты бактериофагами. Вот наиболее простая и одновременно эффективная техника для их выделения из этой избирательной среды.

Изготовить концентрированную, питательную среду, содержащую в 10 раз больше питательных веществ, чем обычный лабораторный бульон. Если применяют мясной экстракт Либиха или какойнибудь аналогичный мясной экстракт, или экстракт из дрожжей (я бы рекомендовал экстракт „Vitam“), то смешивают следующие ингредиенты: пептона 5 грамм, экстракта Либиха или „Vitam“—10 грамм, хлористого натра 5 грамм, водопроводной воды—100 кб.с.

Если применяется бычье мясо или баранина, то нужно будет оставить на ночь 500 грамм мелко нарезанного мяса на 200 к. с. воды; затем, под прессом, выжать мясной сок; брать мясной воды 100 к. с., пептона 5 грамм и поваренной соли 5 грамм.

Какая бы среда ни применялась, нужно ее привести к РН, равному 8. Совершенно бесполезно стерилизовать воду в автоклаве; достаточно прокипятить ее при нормальном давлении минуту или две, охладить и использовать без промедления. Я рекомендую смешать 900 к. с. сточных вод с 100 к. с. концентрированной среды, добавить ко всему этому 10 к. с. 18-ти часовой культуры бактерии, по отношению к которой имеется в виду изолировать бактериофага, поместить колбу в термостат на 24 часа, а затем—20 к. с. смеси профильтровать через бактериоудерживающую свечу Шамберлана.¹⁾

¹⁾ Для того, чтобы облегчить прохождение жидкости через свечу, рекомендуется начать фильтровать мутную жидкость через бумажный фильтр с тонким слоем инфузорной земли. Прибавление инфузорной земли производится простым смешиванием щепотки инфузорной земли к воде и пропусканием взвеси через бумажный фильтр; когда вода прошла через фильтр полностью, то на поверхности фильтра можно заметить тонкую пленку инфузорной земли; затем мутная смесь из колбы проводится (первоначально) через бумажный фильтр с инфузорной землей и затем, уже первоначально дегрессированный, фильтрат подвергается окончательной фильтрации через свечу Шамберлана.

Искомый бактериофаг, обычно, обнаруживается в фильтрате. Надо, впрочем, знать, что некоторые бактериофаги чрезвычайно легко встречаются во всех уголках земного шара. Так, например, всюду легко обнаружить бактериофагов, обладающих высокой степенью активности по отношению к дизинтерийной палочке, микробам—тифозному и паратифозному, колибацилле, и, вообще, микробам кишечной флоры, при условии если вызываемые ими заболевания наблюдаются в указанной местности. Но было, например, безнадёжной попыткой стремление к изолированию из первых встречных вод бактериофага, активного в отношении холерного вибриона. Приводимый опыт будет служить иллюстрацией к этому замечанию: город Бомбей, обычно свободен от холеры; д-р Авари (Avari) проводит 6 мес. в бесплодных поисках в сточных водах этого города бактериофага, активного в отношении холерного вибриона. В июне 1927 г. десяток случаев холеры обнаруживается в этом городе, где живет свыше миллиона жителей: через 4 дня после возникновения первого случая Авари (Avari) сумел изолировать из тех же сточных вод очень активного бактериофага.

Как видно из только что сказанного, в некоторых случаях поиски бактериофага могут явиться лучшим методом для констатирования наличия той или иной инфекционной болезни в том или ином населенном пункте.

Мы только что сказали, что бактериофаги в отношении кишечных микробов обнаруживаются с наибольшей легкостью. Иные бактериофаги встречаются гораздо реже; например, бактериофаги в отношении сибирязвенной палочки, столбнячной палочки, сенной палочки, энтерококка, *b. perfringens*. Наконец, некоторые чрезвычайно редки, как например, бактериофаги стрептококковый и стафилококковый ¹⁾ Пока еще не удалось изолировать бактериофагов, активных в отношении пневмококка, гонококка, менингококка и других кокков, принадлежащих к той же группе.

¹ Необходимо принять во внимание также и другие условия, между прочим, нижеследующее, которое можно было бы назвать „условием времени года“. В моей Парижской лаборатории Сертич, Булгаков, Мазюр (Sertic, Boulgakov, Mazure), производили, начиная с 1928 года, еженедельные выделения различных бактериофагов, исходя из проб сточных вод.

Они констатировали, что активные бактериофаги против стрептококков могут быть изолированы только летом—от мая до августа месяца; выделение их в другое время года—чрезвычайно редкое явление. Это должно быть связано с сезоном появления заболеваний, вызываемых этими микроорганизмами. Эти заболевания особенно часты в Париже в период с февраля по апрель.

Отсюда становится ясным, что объем сточных вод, в которых ищется тот или иной бактериофаг, не должен браться схематично: если речь идет о поисках бактериофага в отношении кишечного микроорганизма, достаточно будет ограничиться поисками в 50 или 100 к. с. сточной воды; для других бактерий нужно будет взять 900 к. с.; если речь идет о бактериофаге против стафилококка или стрептококка, совершенно необходимо будет прибегнуть к длительным поискам, к ряду систематизированных опытов.

Я добавляю еще, что владение, в совершенстве, общей бактериологической техникой, а также знание приемов, специальных для бактериофагии,—имеет огромное значение в деле успешности поисков бактериофага. Так, например, я упомянул о том, что очень нелегко изолировать бактериофагов активных в отношении стрептококков: но вот, недавно, я получил из Англии 11 различных типов скарлатинозных стрептококков. Моему ассистенту, д-ру Булгакову (Boulgakow) было поручено изолировать активные бактериофаги в отношении этих штаммов. Спустя менее, чем 15 дней—он перетал мне 12 рас стрептофагов, выделенных из двух проб сточной воды.

Но добиться подобных успехов возможно лишь в результате нескольких лет теоретического изучения и ежедневных манипуляций. Я позволяю себе указать на это для сведения тех, которым кажется, что при помощи общих бактериологических сведений и обычной микробиологической техники можно сразу же приступить к оригинальным изысканиям в области бактериофагии. К сожалению, слишком много работников руководятся подобного рода взглядами, что и обнаруживается при анализе работ, выходящих так часто по поводу интересующего нас вопроса.

6. ФИЗИЧЕСКАЯ ПРИРОДА БАКТЕРИОФАГА.

Возьмем 24-часовую культуру тифозной палочки, прибавим к ней ничтожные следы, например, одну десятитысячную к. с. жидкости, содержащей соответствующего бактериофага; тотчас же распластает каплю на поверхности агара на чашке Петри, поместим чашку в термостат при 37°. После надлежащего инкубационного срока, мы увидим, что, как обычно, поверхность агара будет покрыта слоем культуры; но на этом слое культуры будет выделяться несколько маленьких округлых пятен, на уровне которых агар представляется совершенно голым, без следов бактериальной культуры. Я назвал эти пятна „*plages vierges*“ (девственными пятнами) или „негативными колониями“.

Прикоснемся к центральной части одного из пятен кончиком тонкой платиновой иглы, погрузим иглу тотчас же в молодую, еле опалесцирующую, культуру тифозной палочки; феномен бактериофагии и тут будет иметь место: после 3 или 4 часов бульон будет совершенно прозрачным. Это нам показывает, что голая, на взгляд, поверхность пятна покрыта, на самом деле, слоем культуры бактериофага.

Цитированный опыт приводит к следующей гипотезе: мы засеяли на поверхности агара большое количество бактерий (т. к. мы имели дело с представившей значительную муть 24 часовой культурой) и чрезвычайно маленькое количество бактериофага (0,0001-ную к. с.) и мы видим, что этот бактериофаг сконцентрировал всю силу своего действия в определенных точках поверхности питательной среды.

Не значит ли это, что бактериофаг обладает массой, что он имеет корпускулярное строение? При подобном допущении каждый корпускул, депонированный на агаре и окруженный со всех сторон бактериями, атакует наиболее близких к нему бактерий, и воспроизводится за их счет. Происшедшие от первого корпускула юнцы в свою очередь атакуют ближайшие бактериальные клетки, и, таким образом, действие бактериофага, продолжаясь *per contiguitatem* захватывает достаточную площадь, чтобы стать доступным невооруженному глазу.

Для проверки этого предположения был произведен целый ряд опытов, подтвердивших правильность приведенной гипотезы. Впрочем, в настоящее время, она является общепризнанной, так что мне кажется излишним цитировать все подтверждающие ее эксперименты, которые можно найти в моих предыдущих работах. Негативные колонии, происшедшие от воздействия на чувствительную микробную культуру определенной расы ¹⁾ бактериофагов, обладают приблизительно, равным диаметром, но, у различных рас—резко разнятся, как по размерам, так и в отношении всех остальных свойств. Некоторые расы бактериофагов дают негативные колонии диаметра, достигающего до сантиметра, другие же вызывают образование негативных колоний, напоминающих уколы иглой; все промежуточные степени могут быть представлены остальными расами, даже при условии воздействия на один и тот же бактериальный



¹⁾ Я применяю термин „раса“, говоря о бактериофагах в том же смысле, в каком применяется слово „штамм“ в отношении бактерий; это делается, специально, с целью избежать путаницы, которая могла бы возникнуть при чтении, в случае применения слова „штамм“, безразлично, к бактериофагу и к бактерии.

штамм. Каждая *plaque vierge* представляет собой, в конечном счете, колонию бактериофажных корпускулов, происходящих от одного бактериофажного тельца. Тут может быть проведена полная аналогия с бактериальными колониями на агаре, возникающими из единой бактериальной клетки.

Но почему негативные колонии остаются ограниченными в своих размерах, почему бактериофажный корпускул не продолжает размножаться, разрушая бактерии по всей поверхности культуры? Можно было бы ответить на это вопросом: почему на агаре изолированные бактериальные колонии остаются ограниченными и не заволадевают всей поверхностью агара? И в том и в другом случае причина одна: все живые существа парализуются в своем размножении продуктами, возникающими в результате их жизнедеятельности. В частном случае, эти продукты диффундируют в агар; когда концентрация их в агаре достигает предельной степени, возможность размножения исключается. Это также легко доказать для бактериофага как и для бактерии.

Дер (Doerr) констатировал, что бактериофаг дающий типичные *plaques vierges* на агаре не вызывает образования негативных колоний на твердых желатинированных средах, и, отсюда, вывел заключение о задерживающем действии коллоидальных сред на явление бактериофагии.

Я вернулся к этому вопросу и доказал, что причина была иной. Методика моих опытов крайне проста: я разлил по чашкам Петри 1½% агар; когда агар затвердел, я поместил чашку в течение часа в термостат при 45°, с целью подогреть ее. Тогда на поверхность затвердевшего и подогретого до 45° агара мною наливалось такое количество 15% желатины, чтобы, наклоня чашку в различных направлениях, смочь покрыть всю поверхность чашки пленкой желатины в один миллиметр, приблизительно, толщиной; я снова ставил чашку в термостат при 45°, на специальной подставке, которая гарантирует абсолютную горизонтальность и выключал термостат, для получения постепенного охлаждения. К этому моменту я имел чашку Петри, поверхность которой представляет питательную желатину, наложенную на агаровый субстрат. В этих условиях я наблюдал образование негативных колоний, совершенно нормальным образом, на желатине. На чашках, изготовленных таким же образом, но содержащих желатину в слое все более и более толстом, мы видим, что диаметр негативных колоний уменьшается по мере того, как растет толщина желатинного слоя; негативные колонии вовсе перестают образовываться, когда толщина этого слоя достигнет, приблизительно, 3 миллиметров (инкубация во время этих опы-

тов, естественно, должна производиться при температуре в 18 градусов).

Эти опыты доказывают, что дело вовсе не в том, что высокое содержание коллоидальных веществ в среде является, само по себе, обстоятельством, исключающим возможность образования негативных колоний. Единственное объяснение заключается в том, что получающиеся в результате бактериофагии растворимые продукты легко диффундируют в толщу агара и гораздо труднее проникают в желатину, капиллярные поры которой имеют несравненно меньший диаметр.

По той же причине, размеры негативных колоний у одного и того же бактериофага, воздействующего на одну и ту же бактерию, при прочих равных условиях—являются большими на однопроцентном агаре, чем на трехпроцентном: торможение в первом случае гораздо меньшее, так как продукты распада, получающиеся в результате бактериофагии, диффундируют легче в субстрат.

При прочих равных условиях, если производить инкубацию при 18°, а не при 37°—негативные колонии имеют больший диаметр: действующая причина в обоих случаях одна и та-же. Негативные колонии образуются в тот момент, когда слой бактерий чрезвычайно тонок, что позволяет растворимым продуктам распада быстро диффундировать в подлежащий слой агара. Достаточно прикоснуться платиновой иглой, предварительно погруженной в лизогенный фильтрат, к уже толстому слою бактерий на агаре, чтобы убедиться в отсутствии микроскопически видимого эффекта. Когда бактериальный слой в достаточной степени толст, продукты распада остаются в аморфном детрите и не диффундируют, откуда и остановка процесса бактериолиза. Чем медленнее будет развитие бактериальной культуры, тем дольше бактериофаг, встречая достаточно тонкий бактериальный слой, может продолжать размножаться и тем большим будет диаметр негативных колоний.

7. ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР ФАГОВ.

Выделение бактериофагов из негативных колоний на агаре дает возможность получения чистых рас бактериофагов, т. е. изолировать в чистоте каждую из различных рас, могущих существовать в фильтрате в состоянии смеси. Этому легко привести экспериментальное доказательство: смешаем два фильтрата, один из которых содержит расу бактериофага, дающего крупные негативные колонии, а второй, вызывает образование небольших „*plages vierges*“, при действии на один и тот-же микробный вид. К 10 к. с.

развившейся культуры этих бактерий прибавим 0,0001 к. с. смеси фильтратов и вотрем в поверхность агара чашки Петри одну каплю этой культуры, содержащую обоих бактериофагов. Капля эта должна быть распределена чрезвычайно тщательно, таким образом, чтобы вся поверхность агара была покрыта ею и чтобы, не оставалось никаких пустот на поверхности питательной среды. Наиболее простая техника заключается в том, чтобы, опустив каплю в центр чашки Петри, распластать ее при посредстве тонкой стерильной, согнутой под прямым углом, стеклянной палочки по всей поверхности среды. Предпочтительно, впрочем, прибегать к методу, который будет указан в следующем параграфе.

После пребывания в термостате в течение 24 часов при 37°, на поверхности агара появляется слой бактериальной культуры, испещренный негативными колониями („plages vierges“), одни из которых больше, другие меньше диаметром. Берем две пробирки, содержащие каждая молодую, еле опалесцирующую, культуру чувствительного к данному бактериофагу микроба; тонкой платиновой иглой прикоснемся к центру одной из крупных негативных колоний и погрузим иглу в одну из двух культур, растирая ее о стенку пробирки, на уровне верхнего слоя питательной среды, как это делается при посевах бактерий с твердой среды на бульон; такую же точно манипуляцию сделаем с негативной колонией меньших размеров и „заразим“ ею вторую культуру.

Бактериофагия проявится в обеих пробирках, но проверка на агаре показывает, что бактериофаг из первой пробирки дает негативные колонии крупного диаметра, тогда как вторая пробирка содержит фага, образующего пятна маленьких размеров, таблица I, II, III. Этот, чрезвычайно легкий для повторения, опыт служит подтверждением факта корпускулярной организации бактериофага. Если бы, как это предполагает Бронфонбреннер (Bronfenbrenner), бактериофаг представлял собой растворимое начало, адсорбированное обломками бактерий, содержащимися в среде, то не было бы никакой возможности разделить два смешанных литических принципа, так как каждый обломок адсорбировал бы одновременно оба растворимых начала.

Возможно раздельное получение из смеси не только двух, но гораздо большего количества рас бактериофагов, прибегая к методу негативных колоний. Возможность выделения в беспримесном виде, исходя из негативных колоний, чистых рас бактериофага — лишний раз подтверждает несомненность факта корпускулярного состояния литического начала.

8. ПОДСЧЕТ КОРПУСКУЛОВ БАКТЕРИОФАГА.

Раз каждая *plaque vierge* представляет собою колонию бактериофагных корпускулов, происходящую от одной особи, то становится понятным, что с их помощью возможно установить, сколько имеется бактериофагных телец в одном кубическом сантиметре фильтрата. Наиболее простая и, одновременно, наиболее точная техника заключается в следующем.

Возьмем 4 пробирки, содержащие каждая 10 к. с. бульонной, уже ясно помутневшей, культуры чувствительного к данному фагу, микроорганизма. В первую пробирку внесем 1 к. с. фильтрата, в котором желательно определить количество бактериофагных телец получаем разведение 1:10; во вторую пробирку внесем $\frac{1}{2}$ к. с. первого разведения, следовательно в этой пробирке разведение равняется 1:200; в третью пробирку вводим нормальную каплю, т. е. 0,05 к. с. второго разведения, доведенного до степени 1:40,000; в четвертую пробирку вводим 2 капли (т. е. 0,1 к. с.) третьего разведения; таким образом, четвертое разведение дойдет до степени 1 4.000.000.

Взять чашку Петри с 2%-ным агаром и жирным карандашом на спинке чашки нарисовать крест, разделяющий поверхность агара на 4 равных сектора; затем, с помощью калиброванной платиновой петли, набрать $\frac{1}{50}$ -ю к. с. содержимого первой пробирки и распределить по поверхности одного из 4-х секторов, тщательно втерев эту смесь, не оставляя пустых пространств.¹⁾

Таким же образом, одна петля из второй пробирки распластывается на втором секторе чашки Петри, оставляя около $\frac{1}{2}$ санм. пограничной полосы между двумя засеянными секторами; совершенно так же засеивается одна петля из третьей пробирки на третий сектор и одна петля из четвертой пробирки на соответствующий четвертый сектор. Чашка Петри помещается в термостат при 37° в течении 24 часов. По прохождении этого срока, выбирают сектор, представляющий хорошо изолированные негативные колонии и производят подсчет их. Число корпускулов бактериофага в к. с. фильтрата дано из следующего расчета: одна негативная колония на 1 секторе соответствует 500 корпускулам в кб. с., во второй — 10.000, в третьем — 2.000.000, в четвертом — 200.000.000. Этот метод совершенно достаточен для повседневной практики. Например, для

¹ Необходим небольшой практический навык для того, чтобы научиться распластывать это небольшое количество жидкости по всей поверхности сектора, не оставляя пустых мест.

целей определения приблизительного количества бактериофагных телец, находящихся в определенный период времени в испражнениях выздоравливающего. Но если дело идет о подсчете корпускулов, в целях теоретических изысканий, то число полученное вышеуказанным методом, могло бы служить лишь для первого ориентира. В означенных целях было бы необходимо, в дальнейшем, учитывая этот приближенный результат, изготовить такое разведение бактериофага в эмульсии чувствительных микробов, которое дало бы, при распластывании на твердой среде, многочисленные негативные колонии. Однако, достаточно разделенные одна от другой, чтобы быть свободно сосчитываемыми.

Распластывается от 0,1 кб. сант. до 0,25 кб. сант. по всей поверхности чашки Петри, диаметром от 10 до 15 сант. Результат этого нового подсчета даст уже гораздо более уточненную цифру¹⁾. Точность этих подсчетов совершенно равноценна точности подсчета живых бактериальных особей, содержащихся в той или иной среде, методом изолированных колоний на агаре.

Впрочем, возможно проверить этот подсчет методом разведения. Для этого берется 13 пробирок, заключающих каждая по 10 к. с. стерильного бульона; каждая пробирка заражается небольшим количеством культуры чувствительного микроба.

К первой пробирке прибавляется 1 к. с. бактериофажного фильтрата; 1 к. с. этого первого разведения, прибавляется ко второй пробирке; 1 к. с. второй пробирки — к третьей, и, таким образом, мы доходим до 12 пробирки, которая получает 1 к. с. 11 разведения. Тринадцатая пробирка служит контролем.

Все эти пробирки помещаем в термостат; спустя сутки, мы отмечаем, что первые пробирки совершенно прозрачны, а последние представляют муть такую же, как и контрольная пробирка, содержащая чистую культуру бактерий. Так как каждое разведение есть кратное десяти, то первая пробирка содержит разведение 1:10 бактериофажного фильтрата, вторая пробирка 1:100 и т. д. Легко высчитать, что если 9 первых пробирок совершенно прозрачны, то это представляет более 100.000.000 и менее миллиарда корпускулов в к. с. фильтрата.

Метод разведения может быть применен только к очень активным бактериофагам; он не дает никакого результата с фильтратом слабой активности (мы сейчас увидим как это об'яснить); пер-

¹⁾ Я указал в „Le Bacteriophage et son comportement“ метод разведений дающий еще более приближенный результат, но приводимая выше методика совершенно достаточна в большинстве случаев.

вый же из упомянутых нами методов применим ко всем бактериофагам.

При максимально-активных бактериофагах,—оба метода дают вполне сравнимые результаты. Метод разведений подтверждает, со своей стороны, корпускулярную структуру бактериофага, т. к. он позволяет убеждаться в том, что если к культуре чувствительного микроба на жидкой среде привнесен хотя бы один бактериофагный корпускул,—то действие его проявится полностью, т. е. мы получим абсолютную прозрачность лизата, и, наоборот, если к бактериальной культуре прибавлено количество фильтрата, заключающего в себе менее одного корпускула, то никаких признаков растворяющего действия мы не заметим, культура останется совершенно нормальной и муть в ней будет равна муте в контрольной пробирке.

Повторные опыты показали, что если ввести в бактериальную культуру одно бактериофаговое тельце, то к концу процесса жидкость, ставшая вновь совершенно прозрачной, содержит в к. с. от 500.000.000 до 20 миллиардов активных корпускулов (это последнее число получено в опытах со стафилококком). В среднем, количество активных телец колеблется между двумя и пятью миллиардами в к. с. Возможность подсчета бактериофаговых телец позволила углубленно изучить интимные процессы явления бактериофагии.

9. ПРОЦЕСС РАЗРУШЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ТЕЛА.

Первый этап бактериофагии заключается в адсорбции бактериофагового тельца бактериальной клеткой. Согласно опытам Кабелика ¹⁾ (Kabelik), бактерия оказывает положительное химиотактическое действие на бактериофагный корпускул. Этот факт подтверждается опытами с фильтрацией, т. к. вскоре после прибавления фага к бактериальной эмульсии, первоначально взвешенные в жид-

¹ Кабелик применил прибор, состоящий из стеклянной трубки с семью припаянными вертикальными ответвлениями. Прибор наполняется песком, подвергается стерилизации, в него вливается некоторое количество стерильного бульона.

В первое, вертикальное, ответвление прибора автором приливался 1 куб. сант. бактериофажной суспензии; из каждого ответвления, через часовые промежутки, автор извлекал каплю жидкости для определения момента появления в ответвлении бактериофага. Спустя 12 часов от начала опыта, бактериофаг обнаружен во 2-м, но отсутствует в 3-м вертикальном ответвлении. Повторяя тот же самый опыт, но на этот раз, вводя с самого же начала в 1-ое ответвление суспензию Шига-бактериофага, а в 7-ое ответвление 1 куб. сант. эмульсии палочек Шига, автор убедился в том, что 12 часов спустя, бактериофаги могут быть обнаруживаемы уже в 6-м ответвлении, в большом количестве.

кости корпускулы исчезают из нее и фиксируются на бактериальных телах. Чем активнее фаг, тем быстрее, полнее и прочнее возникающая связь. Фиксация происходит лишь в том случае, когда бактерия чувствительна к данному бактериофагу: если ввести, например, фильтрат, активный в отношении холерного вибриона в культуру стафилококка, то бактериофаговое тельце продолжает оставаться суспендированным в жидкости; но если прибавить этот же самый фильтрат к культуре холерного вибриона, то быстро наступает фиксация бактериофаговых телец.

Праусниц (Prausnic) обнаружил, что фаг элективно фиксировался на чувствительных бактериях, предварительно убитых теплом. Барнет добился фиксации фага на телах чувствительных к фагу бактерий, убитых 30-ти минутной экспозицией при 70°.

Фиксация не имела места при соприкосновении фага с теми же бактериями, но подвергшимися экспозиции в течение получаса, при температуре в 100°.

Второй этап протекает различно, в зависимости от того, каковы отношения микроба к окраске по Граму (Gram). Грам—отрицательные микробы дают следующую картину: бактериальные клетки постепенно разбухают, некоторые из них принимают даже сферическую форму, и в этом случае превосходят в 15 или 20 раз объем нормальной бактериальной клетки. Затем, внезапно, в промежуток времени равный доле секунды, бактериальная клетка лопается. Этот путь разрушения бактериальной клетки, указанный мною в 1920 г., был затем наблюден целым рядом исследователей. На том месте, где раньше находилась бактериальная клетка, можно заметить лишь облачко, в скором времени исчезающее.

Подобный процесс разрушения бактериальной клетки может иметь место лишь в том случае, если бактериальное тело окружено полупроницаемой оболочкой; вероятнее всего, мы имеем дело не с мембраной, в настоящем смысле этого слова, но с фактом сгущения протоплазмы на периферии бактериальной клетки. Для ясного представления о способах разрушения бактериальной клетки, необходимо иметь в виду, что бактериофажный корпускул. проникает во внутрь бактериальной клетки, а затем вырабатывает „лизин“, т. е. растворяющий фермент, который дает ему возможность вызвать распад бактериальной субстанции; в следующих параграфах будет дано экспериментальное обоснование этому мнению.

Схематически, процесс разрушения бактерий может быть представлен следующим образом. Бактериофажный корпускул. фиксируется элективно на чувствительном микробе и проникает во внутрь бактериального тела, благодаря вырабатываемому им лизину; а затем с по-

мощью того же лизина, ведет к распаду бактериальную субстанцию, размножаясь за ее счет. Но по мере распада бактериальной субстанции, осмотическое давление внутри клетки повышается, возникает эндосмос, т. е. вода проникает во внутрь клеток через поверхностный полупроницаемый слой, давление постепенно нарастает и клетка лопається в тот момент, когда перейден предел эластичности наружной оболочки.

Причина того, что грам-негативные микробы во время бактериофагного процесса разбухают, тогда как грампозитивные не представляют этого явления, объясняется, по моему, тем, что клетка первых ограничена поверхностной, плотной, полупроницаемой оболочкой, тогда как у вторых эта оболочка пориста.

Именно по этой причине они ведут себя различным образом по отношению к самому методу окраски по Граму. Сказанное находится в несоответствии с существующими по этому поводу взглядами. Разнообразные гипотезы были созданы для объяснения разницы в поведении различных микроорганизмов по отношению к окраске по Граму; ни одна из них не кажется мне вполне убедительной. Я произвел недавно несколько экспериментов в этом направлении и вот, что мне удалось обнаружить. Если произвести окраску по Граму, опуская мазок в горячий раствор генцианвиолета, (аналогично тому, как производится окраска туберкулезной палочки по Цилю), и затем, обрабатывать, как обычно, мазок раствором Люголя, то оказывается, что грам-негативные палочки обесцвечиваются под воздействием абсолютного алкоголя или смеси равных частей алкоголя и ацетона, труднее, чем грам позитивные бактерии. Можно даже, при определенной степени обесцвечивания алкоголем, получить препараты, где грам негативные бактерии окрашены в интенсивно-фиолетовый цвет, а бактерии грам позитивные—в красный; таким образом, получается извращенная картина окраски по Граму.

Этот факт можно объяснить тем, что грам негативные бактерии окружены труднопроницаемой для генцианвиолета оболочкой, но если форсировать прохождение окраски во внутрь действием тепла, то однажды окрашенные микроорганизмы обесцвечиваются с большим трудом. Во всяком случае, опыт Грама à chaud показывает, что разница в отношении различных микроорганизмов к этому методу окраски объясняется не качественными отличиями бактериальной протоплазмы, т. е. разницей химического порядка, но отличиями в физической организации бактериальной клетки.

Нужно, впрочем, заметить, что, в особенности в отношении бактерий, не окрашивающихся по способу Грама, все особи в одной

и той же эмульсии, претерпевающей лизис, не разрушаются одним и тем же образом. В начале процесса, первые бактерии, претерпевающие лизис, разбухают, достигая объема, превосходящего более чем в 10 раз объем нормальных бактерий. Наибольшее разбухание я обнаружил у дизентерийной палочки Шига, у которой, незадолго до разрыва, оболочка становится совершенно сферической, шаровидной. Уже у кишечной палочки мне не удалось обнаружить сферических образований, мною были подмечены только сводные формы. В конце литического процесса чрезвычайно редко удается наблюдать бактерий, достигающих таких значительных размеров; чаще всего—мы наблюдаем дезаггрегацию их без разбухания. Причина этой разницы в аспектах лизиса должна быть следующая: в одном из последующих параграфов мы увидим доказательство тому, что бактериофагный корпускул не вызывает растворения бактериального тела в результате одного лишь своего присутствия, но что он вырабатывает один или несколько литических ферментов, так называемые „лизины“. Не подлежит сомнению, что во время лопания (разрыва) или дезаггрегации бактерий—лизины изливаются в окружающую жидкость одновременно с бактериофажными корпускулами и с веществом растворенных бактериальных тел. Освобожденные дезаггрегацией лизины, по всей вероятности, начинают воздействовать на периферический слой еще не поврежденных бактериальных тел. Таким образом, бактериальные клетки, подвергающиеся лизису во 2-ю очередь, испытывают воздействие как проникших в них бактериофагов (что имеет тенденцию вызывать разбухание бактериальных тел), так и литических ферментов, ведущих к растворению наружного слоя бактериальной клетки, потере ею эластичности и уменьшению ее устойчивости. Если указанное действие продолжается, периферический слой оказывается совершенно растворенным к моменту проникновения бактериофагового тельца в бактерию, и бактерия из кишечной группы может в этом отношении вести себя как грампозитивные микробы, т. е. она подвергается простой дезаггрегации, без предварительной стадии разбухания. Имеются опыты, доказывающие, что в процессе лизиса множество бактерий подвергаются расплавлению, даже не будучи паразитированы тельцами. Они совершенно растворяются от воздействия растворимого лизина, выделенного в среду; действительно, мы убедимся в дальнейшем, что можно получить полное растворение устойчивых к бактериофагу микробов, если ввести их в культуру, находящуюся в разгаре литического процесса ¹.

¹ В работе „Le Bactericphage et son comportement“ приведено множество опытов подобного рода.

Следовательно, в культуре грам-негативного микроба в начале лизиса можно будет обнаружить исключительно резкое разбухание бактерий и разрыв бактериальной оболочки. Затем этот способ разрушения бактериальных тел становится все менее и менее частым, разбухание все менее и менее выражено, и, к концу литического процесса, большинство бактерий будет разрушено простой дезагgregацией бактериальных частиц. Но, впрочем, мы имеем возможность простой проверки этого факта. Для этого достаточно окрасить в различные моменты лизиса препараты по способу Грама. Мы убедимся в том, что, вначале, подвергающиеся лизису бактерии не воспринимают окраски по Граму, также как и эти самые бактерии в нормальном состоянии. Затем некоторое количество их становится грам-позитивным и, в дальнейшем, число воспринимающих окраску по Граму особей увеличивается мало по малу. Мне удалось даже обнаружить, что к концу лизиса, все еще не растворившиеся бактерии оказывались грам-позитивными. Таким образом, мы находим объяснение тому, что они себя ведут в отношении хода в них процесса разрушения также, как и бактерии, грам-позитивные в обычных условиях.

Вот, в пределах известного нам до сегодняшнего дня, поведение бактерий в течение литического процесса. Что же касается бактериофажного корпускула, то имеется возможность экспериментально доказать, что после прилипания к бактериальной клетке, он проникает во внутрь бактерии. Мы имеем двоякого рода доказательства этому: во первых, сам факт разрыва, который немисливо представить себе без участия какой то внутри действующей силы, с другой мы увидим в дальнейшем, что Doogen de Jongh доказал существование бактериофажных телец внутри спор; следовательно, является совершенно необходимым, чтобы бактериофаг предсуществовал внутри бактериальной клетки.

Внутри бактериофаг сецернирует вырабатываемые им лизины (мы докажем реальность существования этих лизинов в следующей главе), что позволяет ему ассимилировать бактериальную субстанцию. Следствием этого является деградация бактериальных нуклеопротеинов, увеличение осмотического давления, разбухание и, наконец, лопание бактерий грам-негативных и простая дезагgregация бактерий грам-позитивных. К этому моменту, колония юных бактериофагов освобождается из клетки в жидкость и каждая из них получает возможность проникать в здоровую бактериальную особь.

Количество корпускулов, составляющих внутриклеточную колонию, или, что то же самое—количество бактериофагов, содержащихся в бактериальных телах в момент их разрыва или дезагре-

гации, чрезвычайно разнообразно и зависит от активности взятой расы бактериофага, от свойств атакуемой бактерии и от условий лизиса. Максимальное количество которое мне удалось установить, —равняется 87. Дело, в этом случае, шло о тифозной палочке, выделенной из первой волны лизиса, возникшего спустя 12 мин. после прибавления литического начала.

10. РАЗМНОЖЕНИЕ КОРПУСКУЛОВ ФАГА.

Разрушение бактериальных тел, независимо от того, протекает ли оно по типу разрыва или дезагрегации бактериальной клетки, сопровождается явлением первостепенного значения, т. к. оно составляет самую основу феномена бактериофагии: разрушение бактериальных тел коррелятивно размножению бактериофагных корпускулов.

Оба явления протекают параллельно: если разрушения бактериальных тел идет медленно, то замедлено и размножение фага; если расплавление бактерий протекает в быстром темпе, то быстро нарастает и количество фагов, изучение ритма размножения бактериофага дает полное объяснение наблюдаемого процесса.

Поместим в термостат, при 37°, 250 к. с. бактериальной эмульсии, содержащей в куб. сант. около 250.000 бактериальных зародышей и добавим к ней суспензию очень активных корпускулов фага (около миллиарда корпускулов).

Через каждые пять минут—извлекаем по 10 куб. сант. смеси, быстро центрифугируем (или тотчас-же отфильтруем) и приступим к установлению (путем подсчета негативных колоний) количества корпускулов в фильтрате или в прозрачной жидкости, всплывающей над центрифугатом.

Обнаруживается следующее: с большей или меньшей быстротой, в зависимости от активности примененной расы фага, количество бактериофагных телец, взвешенных в жидкости, уменьшается; при высокой активности литического начала, его остается, спустя несколько минут, менее одного процента первоначального количества.

Исследование центрифугированного осадка показывает, что исчезнувшие тельца фага находятся в нем.

Спустя определенный срок (тем более короткий, чем вирулентнее взятый в опыт фаг), бактериофагные тельца снова появляются в жидкости, чрезвычайно быстро, в порядке взрыва, нарастая в числе; количество их намного превосходит начальное число: мы

имеем дело с освобождением из бактериальной клетки юных корпускулов.

Размножение бактериофагных телец в порядке последовательных волн, чрезвычайно ярко выраженное в начале процесса—имеет, и в дальнейшем, тенденцию к потере периодичности; это является следствием одновременного размножения фагов (что может быть установлено на опыте).

Приведенный опыт, первоначально, оспаривался; теперь же Барнетом (Burnet) ему уже дано новое подтверждение. Техника опыта Барнета сводится к следующему: к ряду пробирок, содержащих, каждая, по полукубику микробной эмульсии, инокулируется одинаковое количество фага. Через определенные промежутки времени (минуту, например)—все содержимое пробирки выливается на поверхность агара в большей чашке Петри и тщательно распределяется по всей питательной среде.

Подсчет стерильных пятен, после надлежащего инкубационного срока, на этих последовательных засевах—показывает ритм размножения фага.

Проведенный Барнетом, при помощи этой новой методики, опыт полностью подтвердил мои первоначальные, полученные иным путем, данные.

В свете этих данных становится понятным, почему интенсивность обоих процессов—разрушения бактериальных клеток и размножения бактериофагных корпускулов—нарастает параллельно: чем быстрее течет нарастание количества фагов, тем интенсивнее идет процесс разрушения бактериальных тел.

11. ВАРИАБИЛЬНОСТЬ БАКТЕРИОФАГОВ.

Каждый исследователь, выделявший за время своей работы ряд рас бактериофагов, активных по отношению к одному и тому же микробу, должен неизбежно прийти к заключению, что поведение различных рас бактериофага чрезвычайно разнообразно: одни из этих бактериофагов в такой степени активны, что наличие в смеси с бактериальной эмульсией единственного корпускула, т. е. разведения, равного миллиардной части куб. сант. исходного филтраты, достаточна для растворения полумиллиардной эмульсии чувствительных бактерий; другие расы, содержащие, как это показывает подсчет негативных колоний, несколько сот миллиардов бактериофагных корпускулов в к. с.—способны вызвать лишь легкую задержку в росте культуры аналогичной густоты. Между этими двумя крайними степенями активности находится цепь рас, звенья

которой представляют все переходы от максимальной вирулентности к почти полному отсутствию активности. Некоторые авторы пытались определить силу бактериофага, устанавливая степень последнего активного разведения (что равносильно подсчету количества корпускулов). Определение силы действия бактериофага, путем подсчетов корпускулов, содержащихся в единице, объема фильтрата, также невозможно, как нельзя определить вирулентность штамма чумной палочки подсчетом количества микробов, содержащихся в к. с. культуры. Как в одном, так и в другом случае доминирует не количество, а „качество“. В настоящий момент является общепризнанным, что энергии действия двух различных бактериофагов всегда отличаются друг от друга.

12. ОЦЕНКА ВИРУЛЕНТНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ.

Опыт показывает, что сила действия различных рас бактериофагов находится в точном соответствии с быстротой их размножения. Скорость размножения бактериофага легко может быть определена (мы видели в предыдущем параграфе, каким способом можно достигнуть точного счета корпускулов, содержащихся в единице объема жидкости); достаточно будет иметь в своем распоряжении пробирку бульонной культуры чувствительного микроба в возрасте от 18 до 24 часов, ввести в эту культуру небольшое количество фильтрата, содержащего бактериофага, и произвести подсчет корпускулов; это дает нам первоначальное количество бактериофажных телец в к. с. жидкости; пробирка помещается в водяную баню при 37° и, через каждые 10 минут производится новый подсчет количества негативных колоний; нарастание количества „*plages vierges*“ показывает нам темпы размножения бактериофагов.

Мною, в прошлом, дана методика, позволяющая фиксировать численным изображением активность данного бактериофага, эта методика довольно сложна. Двое из моих сотрудников—Сертич (Sertic) и Булгаков (Boulgakow) недавно выработали более простые приемы, которые мне кажутся в настоящее время наилучшими. Опираясь так, как мною указано несколькими строками выше; они определяют время, необходимое для удвоения количества инициальных корпускулов; этот отрезок времени, выраженный в минутах, представляет относительную активность бактериофага; ясно, чем этот отрезок меньше, тем мощнее взятый бактериофаг. Для того, чтобы дать численное выражение вирулентности, можно было бы пользоваться количеством минут, пошедших на удвоение числа корпускулов, но это может ввести в заблуждение, т. к. наиболее низкая

цифра—10 минут, наблюдается при наибольшей вирулентности и наиболее высокая цифра—1.440 минут (24 часа), наблюдается при наименьшей вирулентности. Я предлагаю избрать индексом вирулентности число, обратное количеству минут, т. е. оставляя в стороне нули с левой стороны брать четыре первые цифры частного, полученного при разделении единицы на число минут, понадобившихся на удвоение количества корпускулов при температуре в 37° ; например, вирулентность бактериофага, корпускулы которого удваиваются в 10 минут, будет выражена цифрой 1.000 ($1:10=0,1000$); вирулентность бактериофага, удваивающего количество корпускулов за время в 60 мин., выражается цифрой 166 ($1:60=0,0166$); если время, понадобившееся на удвоение корпускулов равно 3 часам, т. е. 180 минутам, индексом вирулентности будет 55 ($1:180=0,0055$), наконец, если время понадобившееся на удвоение корпускулов, равнялось 24 часам, т. е. 1440 минутам, индекс вирулентности будет равен ($1:1440=0,0007$). С помощью описанного ими метода, Сертич (Sertic) и Булгаков (Boulgakow) определили вирулентность 27 рас бактериофагов, которые все были активны в отношении одного и того же штамма тифозной палочки. Девять из этих рас давали удвоение количества корпускулов в срок от 10 до 20 минут, при 37° ; семь из них требовали для получения того же результата от 40 до 60 минут; шесть—между часом и полутора часами; одна из этих рас давала удвоение за 3 часа, и, наконец, последняя удваивала число корпускулов лишь через 24 часа.

Как читатель заметит, разница в энергии действия является чрезвычайно значительной; быстрота размножения точно соответствует активности действия. Между этими 27 расами, например, расы, дающие удвоение в срок от 10 до 20 минут, производят растворение молодой культуры при наличии в смеси одного лишь бактериофажного корпускула в 6-ти часовой срок; расам фага, которым на удвоение корпускулов требуется от 40 до 60 минут, нужно для полного растворения соответствующей бактериальной культуры не менее 24 часов; что же касается рас, удвоение корпускулов которых идет более замедленным темпом, то они оказываются не в состоянии вызвать полного бактериолиза, т. к. „самые медленные“ расы не вызывают даже временного просветления культуры и при условии прибавления многих миллиардов корпускулов¹.

¹ Некоторые авторы, производившие свои все опыты с одним единственным бактериофагом, начертили кривую хода явления в их опытах и, на этой основе пытались выводить заключения общего характера, касающиеся бактериофагии в целом. Подобного рода заключения лишены силы доказательств, т. к. если бы авторы экспериментировали с расами иной вирулентности чем та, которой обладал бывший в их распоряжении фаг, то и их кривые носили бы совершенно иной характер и служили бы к опровержению их собственных выводов.

Но что такое „активность“ бактериофага? Бактериофагные корпускулы размножаются за счет бактерий, и сила их действия находится в зависимости от быстроты размножения. Но ведь это точно совпадает с определением понятия „вирулентность“.

Для бактерий вирулентностью является способность размножаться в организме хозяина: вирулентность эта тем выше, чем быстрее идет в чувствительном организме нарастание количества, размножение бактерий. То же самое мы наблюдаем с бактериофагами корпускулами—только, для них, организмом—хозяином является бактериальная клетка. Мы увидим в дальнейшем, что аналогия не останавливается на этом пределе.

13. ПОВЫШЕНИЕ И ПОНИЖЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ.

Пастер показал, что для повышения вирулентности патогенной бактерии, необходимо провести ее через организмы чувствительного животного. Когда мне довелось констатировать, что активность действия бактериофага может быть уподоблена вирулентности бактерий, я естественно пришел к мысли о возможности экзальтации вирулентности слабого бактериофага, путем проведения его через культуру чувствительной бактерии; мне удалось удостовериться на деле, что есть возможность, таким путем повысить первоначальную вирулентность бактериофага. Необходимые для этого технические приемы, чрезвычайно просты: чувствительная бактерия засеивается в пробирку с бульоном, эта пробирка тотчас-же заражается капелькой фильтрата, содержащего слабого бактериофага. После 24 часов нахождения в термостате, жидкость фильтруется сквозь свечу Шамберлана, даже если культура еще не просветлилась; та же самая операция повторяется с новым фильтратом, и подобная процедура возобновляется 10—20 раз.

Возможность повышения вирулентности бактериофага методом пассажей непрерывными рядами—общеизвестна. Но надо знать, что свойство приспособления к той или иной культуре чрезвычайно варьирует, в зависимости от рас бактериофагов: некоторые расы, чрезвычайно слабые в момент выделения, доходят до максимальной степени вирулентности в результате лишь нескольких пассажей; другие, возможно, более мощные чем первые, в момент своего выделения—не поддаются экзальтации вирулентности даже после значительного количества пассажей. Мы, впрочем, констатируем у различных рас фагов чрезвычайную пестроту каждого, из взятых в отдельности, свойств: несомненно, что фаг является, в природе, существом, наилегче изменяющим свои свойства.

Можно добиться понижения вирулентности литического агента путем прогрева до температуры несколько более низкой, чем температура разрушения бактериофага. Это уменьшение вирулентности может быть в такой степени резко выражено, что подобные расы не дают ни лизиса в жидкой среде, ни даже негативных колоний на агаре; но после некоторого количества пассажей в нормальных условиях, бактериофаг восстанавливает прежнюю свою вирулентность.

Количество, в единице объема, бактериальных тел, растворение которых может быть получено под воздействием бактериофага, колеблется в связи с вирулентностью этого последнего. Бактериофаг максимальной вирулентности может вызывать полное просветление бактериальной эмульсии, содержащей около миллиарда бактерий в к. с. Если бактериальная эмульсия содержит большее количество бактерий, чем тот предел, за которым прекращается полное растворение бактериальных тел (а этот порог определяется вирулентностью примененного бактериофага), то введенный в эмульсию бактериофаг может претерпеть понижение вирулентности.

В этом параграфе я применил классическое определение понятия вирулентности как способность размножаться *in vivo*. Но на это могут возразить, что это определение в конечном счете: *petitio principii*. Попробуем глубже проникнуть в природу этого явления.

Введем экспериментируемому животному небольшое количество бактериальной культуры. Тут могут возникнуть две возможности: бактерии могут или размножаться в организме животного или могут оказаться лишенными этой способности. В этом втором случае можно дать различное объяснение, формулировать ряд гипотез. Но при первой альтернативе существует одна возможность объяснения: должно признать, что введенные в организм бактерии обладали способностью ассимилировать живую субстанцию хозяина. Принимая во внимание общее поведение живых существ, мы должны признать также, что, введенные в организм, бактерии секретируют фермент, способный расщеплять один или несколько составных частей тканей хозяина, что позволило им ассимилировать некоторые из продуктов деградации этих тканей; отсюда вытекает сама возможность их размножения. Это позволяет нам заключить, что вирулентность — есть способность секретиовать один или несколько ферментов, способных вызывать расщепление одной или нескольких тканей хозяина ¹.

¹ Я развил эту теорию вирулентности в 1930 г.

В дальнейшем легко понять, что вирулентность может варьировать (в зависимости от большей или меньшей способности сецернировать фермент вирулентности, что сводится уже в вопросам количественного порядка) и что каждый патогенный микроб действует различным образом (в зависимости от качества сецернируемых ферментов, направленных против той или иной составной части, того или иного, органа, подвергающегося разрушению).

Я все время говорю о ферментах, но не об энзимах, т. к. эти „ферменты вирулентности“ или „вирулины“ обладают, несомненно, своеобразной природой. Они, в силу самого определения, способны вызвать расщепление живых тканей, тогда как энзимы могут атаковать ткани только после того, как они были девитализированы в результате свертывания.

Вирулентность бактериофага по природе своей аналогична вирулентности патогенных бактерий. Его „ферменты вирулентности“ — суть те самые лизины, о которых мы будем говорить подробнее в следующей главе.

14. ОБЪЕМ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИОФАГА.

Свойство атаковать один или множество бактериальных видов варьирует у бактериофагов в чрезвычайно широких пределах.

Возьмем конкретный пример: выделим из различных образцов сточной воды сотню рас бактериофагов, обладающих вирулентностью по отношению к кишечной палочке. Легко удостовериться в том, что некоторые из этих рас будут обладать активностью по отношению к одному лишь штамму *b. Coli*, другие расы будут обладать более широким диапазоном действия и атаковывать два или три штамма, и, наконец, третьи — вызывают бактериолиз целого ряда разнообразных штаммов этого микроба. Мы еще не имеем в своем распоряжении бактериофага, который бы вызывал растворение всех без исключения штаммов кишечной палочки.

Другой пример: ничего не может быть легче выделения из соответствующих патологических продуктов бактериофагов, действующих на стафилококка (исходя из гноя абсцесса или фурункула в стадии разрешения). Но, обычно, эти расы обладают небольшим полем действия и чаще всего являются строго моновалентными, атакуя лишь один штамм стафилококка; впрочем, существуют расы, имеющие чрезвычайно широкий диапазон действия, но они очень редки: насколько мне известно, их обнаружено лишь четыре: одна раса изолирована Грациа (*Gratia*) из карбункула в стадии излечения и три изолированы в моей лаборатории, из сточных вод. Эти че-

тыре расы атакуют каждая в отдельности от 60 до 75% всех стафилококков, выделенных из патологических продуктов (фурункулы, карбункулы, инфицированные раны, абсцессы и т. д.); смесь этих четырех бактериофагов вызывает растворение 95% всех встречающихся стафилококков.

Некоторые бактериальные виды гораздо более „гомогенны“ по отношению к бактериофагам, чем стафилококки и кишечная палочка. За небольшими исключениями, все расы бактериофага, обладающие высокой активностью в отношении дизентерийной палочки, одинаково активны для всех штаммов этой палочки. Как это явствует из многочисленных изысканий, произведенных в Индии, холерный вибрион является также гомогенным видом по отношению к бактериофагу: многие сотни вибрионов, изолированных от больных, в начальной стадии инфекции, оказались чувствительными по отношению к имеющейся у меня очень вирулентной расе бактериофага. В противоположность этому, множество рас, изолированных от выздоравливающих бациллоносителей оказались устойчивыми по отношению к действию бактериофага. Читатель увидит причину этой разницы в поведении микроба—в последующих главах.

Но поле действия бактериофага может быть более широким: некоторые расы не ограничивают своей активности одним бактериальным видом, но способны вызывать лизис бактерий, принадлежащих к самым разнообразным видам. Расы бактериофагов, атакующих одновременно дизентерийные палочки типов Шига, Флекснера и Гисса (Shige, Flexner, Hiss), ряд штаммов кишечной палочки, палочки тифа и паратифов А и В, а также различные виды сальмонелл—не представляют собой редкости. У одной и той же расы бактериофага можно обнаружить „мозаику“ вирулентных свойств и, по всей вероятности,—так велика вариабильность бактериофага—не существует двух рас, абсолютно накладывающихся одна на другую в отношении вирулентности; во всяком случае, между десятками тысяч рас, которые были изолированы в моей лаборатории, мы не могли обнаружить двух, во всех смыслах идентичных. Мое внимание было вначале же привлечено этим чрезвычайным разнообразием всех свойств и, в особенности, вирулентности различных бактериофагов, и это явление уже отмечено в моей первой, обобщающей работе, появившейся в 1921 г. Мы познакомимся в главе III с тем, как один и тот же бактериофаг может потерять или приобрести вирулентность к тому или иному микробу в результате „симбиоза“

Возможно приучить *in vitro* некоторые расы бактериофага лизировать один или несколько бактериальных видов, по отношению

к которым они были в начале совершенно бездеятельны; и в этом случае, различные расы ведут себя неодинаково: некоторые расы приспособляются чрезвычайно легко путем пассажей, с другими—нет никакой возможности добиться приспособления, во всяком случае, в условиях эксперимента.

Принцип приспособления „пассажами“ заключается в следующем: исходим из расы, бактериофага, чрезвычайно активного по отношению к определенному бактериальному виду и слабо активного по отношению к одному или нескольким другим видам; производим пассажи последовательными рядами в жидкой среде за счет одной из бактерий, которую взятый бактериофаг атакует слабо; вирулентность по отношению к этой бактерии повышается мало по малу (если вирулентность не поддается повышению в результате ряда пассажей, то не имеет смысла настаивать на продолжении опыта, т. к. дело идет о расе неподдающейся повышению вирулентности в экспериментальных условиях). Когда вирулентность в отношении взятого в опыт микроорганизма достигла определенной степени, то переходят, прибегая к методу негативных колоний, к определению степени повышения второстепенных вирулентностей. Для этого мы прибегаем к серийным пассажам среди тех из бактериальных видов, по отношению к которым проявилась, хотя-бы и очень неярко выраженная, вирулентность. Таким путем можно расширить поле действия адаптабельного бактериофага и распространить его литический эффект на различные бактериальные виды; но работа эта чрезвычайно длительна и кропотлива. Шурман (Shurman), за время моей работы в Лейденском университете, сумел в моей лаборатории приспособить фага, в начале активного только по отношению к дизентерийной палочке Шига, к растворению двенадцати различных бактериальных видов, переходя последовательно от одного вида к другому. В том случае, когда исходная раса бактериофага представляет множественную вирулентность, было возможно думать (подобного рода возражение было мне сделано), что дело идет не о чистой расе, но о смеси различных рас бактериофага. На это можно возразить, что даже после ряда последовательных „очищений“ бактериофага, выделенного из изолированных негативных колоний—раса сохраняет исходную множественную вирулентность; если, с другой стороны, культивировать ее за счет одних и тех же, поддающихся ее воздействию, бактериальных штаммов в течение длинного ряда пассажей,—то и в этом случае она сохраняет множественную вирулентность (что было бы невозможно в случае смеси бактериофагов различной, качественно, вирулентности, т. к. в результате последовательных разведений, были бы отсея-

ны все бактериофаги, активные лишь по отношению к данному бактериальному виду). Флю (Flu) приносит еще один дополнительный ответ на это возражение: им изолирована из воды одного из каналов Лейдена раса бактериофага, активного по отношению к дизентерийной и брюшно-тифозной палочке, к различным штаммам кишечной и чумной палочки ¹.

Флю (Flu) замечает, что если подвергнуть воздействию температуры в 58° культуру этого бактериофага, то можно уничтожить полностью ее способность лизировать кишечную палочку. Флю прибегает, затем, к производству ряда пассажей за счет чумной палочки и устанавливает, что мало по малу, вирулентность к кишечной палочке появляется наново. Единственно возможное объяснение этого факта заключается в том, мы имеем дело с различными вирулентностями, носителем которых является один и тот-же бактериофагный корпускул.

15. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВИДОВ К БАКТЕРИОФАГУ.

Чувствительность к литическому процессу установлена для многих бактериальных видов. Между ними фигурирует большинство видов обитающих в кишечнике или вызывающих заболеваний, дающие кишечные симптомы у человека и животных, а именно: разнообразные бактериальные возбудители дизентерийных процессов, тифозные и паратифозные палочки, различные виды сальмонелл, синегнойная палочка, протей, холерный вибрион, палочка флажковой шелковичного червя и т. д., различные пастереллы животных, вызывающие геморрагические септицемии рогатого скота, птиц и т. д., палочка чумы человека. Ряд кокковых (сосасаеae) также подвергается трансмиссильному лизису: стрептококки (скарлатинозный, мытный, рожистый, пуэрпериальный и т. д.), стафилококки, энтерококки, дифтерийная палочка, различные споровые палочки *B. Subtilis*, *megatherium*, палочка сибирской язвы, палочка столбняка и, наконец, различные бактерии, живущие в тканях растений, *b. radicolica*, *b. tumefaciens*). Таким образом, помимо некоторых кокков (пнемококки, менингококки, гонококки) и всех кислотоупорных

¹ Читатель мог задуматься над объяснением присутствия чумного бактериофага в воде канала Лейдена, когда в Голландии отсутствует человеческая чума. Экспериментируя в Индокитае с противочумными бактериофагами, я установил, что вирулентность их распространяется и на палочку псевдотуберкулеза грызунов; бактериофаг, о котором шла речь, обладал активностью по отношению к этому последнему микробу (часто встречающемуся в Голландии) и („вторичная“) вирулентность его простиралась и на чумную палочку.

палочек, в отношении которых еще ни разу не было констатировано бактериофагического процесса,—не существует бактерий, в отношении которых уже сегодня не было бы возможности обнаружить, с большей или меньшей легкостью, вирулентного бактериофага.

Чему следует приписать устойчивость по отношению к фагу всех тех бактериальных видов, которые сейчас перечислены мною?

По всей вероятности тому, что все штаммы этих видов являются резистентными формами, наследственными носителями бактериофага. Чтение 3-й главы позволит ясно ориентироваться в том, что это означает. Должен оговориться, что в настоящий момент я могу представить экспериментальные доказательства лишь в отношении пнеймококков.

16. ВТОРИЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ.

Когда раса чувствительной бактерии атакована высоко вирулентным бактериофагом, то все бактерии, находящиеся в среде гибнут, бактериальные тельца растворяются полностью и среда, к моменту завершения бактериофагии, также прозрачна, и как стерильный бульон, и эта прозрачность сохраняется на неопределенно долгое время.

Если вирулентность бактериофага меньшая, то бактерия может успеть оказать сопротивление. Это не выходит из пределов привычного в области учения об инфекции: нам неизвестны паразиты, обладающие такой вирулентностью, чтобы все атакованные ими особи погибали-бы без исключения ¹.

Устойчивость со стороны бактерий проявляется различным образом, в зависимости от большей или меньшей степени вирулентности бактериофага. Если вирулентность бактериофага достаточно велика, то бактериофагия в жидкой среде, вначале, протекает таким же самым образом, как и при бактериофаге, обладающем мак-

¹ Впрочем, теоретически нельзя отрицать возможность существования бактериальных видов, обладающих абсолютной степенью вирулентности и по отношению к которым чувствительные организмы были бы беззащитны. В результате встречи с подобными микробами должно было последовать полное вымирание чувствительного вида животных. По всей вероятности, подобного рода явление могло наблюдаться во время прошедших геологических периодов и не исключена возможность повторения его и в наши времена. Трудно объяснить с помощью иной гипотезы внезапное исчезновение некоторых животных видов. (например, исчезновение странствующего голубя в Америке, которое произошло в 1870 г.; до этого времени странствующий голубь был, несомненно, наиболее многочисленным видом среди пернатых Северной Америки).

симально экзальтированной вирулентностью, т. е. среда становится абсолютно прозрачной. По истечении различного периода времени варьирующего (от 18 часов до многих дней), в среде возникает более или менее резко выраженное помутнение, в результате подема новой волны бактериальной культуры; проверкой устанавливается, что эта культура обладает полной устойчивостью по отношению к действию бактериофага. Я обозначил эти культуры устойчивых бактерий названием „вторичных культур“.

Если вирулентность бактериофага слабая, то бактерии приобретают устойчивость и начинают размножаться ранее даже, чем среда успеет просветиться. В такой случае, быстрое распространение устойчивых бактерий маскирует иногда проявление феномена бактериофагии в жидкой среде, и необходимо прибегнуть к методике получения негативных колоний на агаре, чтобы установить наличие бактериофага.

Этот, как вы видите, совершенно особый ход явлений, много раз вводил в заблуждение исследователей, работавших в области бактериофагии. Мне кажется необходимым указать, что нужно остерегаться изучать бактериофагический процесс, работая со смесью различных рас бактериофагов, обладающих различной вирулентностью. Легко понять, что с того момента, когда бактерия приобретает устойчивость по отношению к бактериофагам со слабой вирулентностью, эта, быстро приобретающаяся, устойчивость может помочь ей сопротивляться действию бактериофага, обладающего большей мощностью и присутствующего в смеси. Я позволяю себе рекомендовать работать всегда с чистыми расами бактериофага; это не представляет особых трудностей, т. к. мы видели, что методом изолированных негативных колоний можно отделить друг от друга различные расы бактериофага, находящиеся в состоянии смеси. Я говорил выше относительно „условий внешней среды“; эти условия имеют значительное влияние на процесс приобретения устойчивости бактериями, т. к. они могут, в зависимости от обстоятельств, давать преимущества одному или другому из антагонистов.

Наиболее выгодная температура для бактериофагии находится в пределах от 20 до 30°; выше 30°—условия становятся все более и более выгодными для бактерии. Так, например, при максимально вирулентном бактериофаге, при температуре ниже 30°, при наличии прочих равных условий, благоприятных для бактериофагии, вторичные культуры не возникают вовсе. При температуре в 37°, если производить опыт с большим количеством пробирок одновременно, часть пробирок останется прозрачной, другие же дадут вто-

ричную культуру. При температуре выше 40° , вторичная культура будет иметь место во всех пробирках ¹.

Реакция среды, наиболее благоприятная для бактериофагии, колеблется в пределах между РН 7,6—8,0.

Бактериофаг, который не допускает образования вторичных волн в среде с РН—7,8, не в состоянии помешать возникновению вторичной волны бактериальной культуры в той же среде, но при РН 6,3.

Состав среды также имеет известное значение. В среде, изготовленной из мясного экстракта (типа Либиховского) или из мясного настоя, присутствие пептона благоприятствует бактериофагии; в средах же, изготовленных из экстрактов дрожжей (типа „Vitam“) присутствие пептона не оказывает никакого действия на ход лизиса. Надо добавить, что экстракт „Vitam“ содержит лишь аминокислоты и не заключает в себе следов протеиновых веществ или пептонов. Я не буду долго останавливаться на явлении устойчивости бактерий, т. к. это явление, имеющее большое значение, будет рассматриваться подробно в посвященной ему 3-й главе.

17. ПРОТОБАКТЕРИИ.

Я указывал еще в 1921 году, что лизаты бактериальных культур (дизентерийной палочки, кишечной палочки, чумной палочки, брюшнотифозных палочек), полученные под влиянием бактериофага и профильтрованные сквозь свечу Шамберлана L_2 или даже L_3 —претерпевают вторичное помутнение в результате развития устойчивых, по отношению к бактериофагу, культур. Появление этих вторичных культур после фильтрации, обычно, требует значительного промежутка времени, и полученная муть остается неопределенно долгое время чрезвычайно легкой. Я много раз наблюдал, что подобного рода совершенно прозрачные фильтраты, распределенные по запаянным ампулам, претерпевали помутнение лишь после многих недель. Это явление, впрочем, далеко не постоянное и, до сих пор, не удалось установить закономерностей, лежащих в основе появления этих культур; во всяком случае, появление вторичных волн, вторичное помутнение среды—связано со свойствами бактериальной клетки, а не с качествами бактериофага, т. к., возникая

¹ Мне удалось выделить лишь одну расу бактериофагов против *b. Megatherium* и другую, действующую на *b. Subtilis*, которые обладали такой силой действия в 40° при бульоне РН—7,0; но подобного рода вирулентность наблюдается в порядке большого исключения.

чрезвычайно часто с определенными бактериальными штаммами, секундарные культуры представляют собой очень большую редкость и никогда не наблюдаются с другими штаммами.

Так, как среда, ставшая, в результате бактериофагии, на вид абсолютно прозрачной, затем фильтруется через свечу, непроницаемую для бактерий, приходится признать, наблюдая появление культуры в подобных фильтрах, что в основе происхождения (секундарных) культур, находятся мельчайшие бактериальные формы, для которых бактериоудерживающие фильтры проницаемы. Я предлагаю дать этим фильтрующимся бактериальным формам название „протобактерий“.

Различные авторы, в частности Изар (Izar). Томазелли (Tomasselli) и, в особенности, Одюруа (Hauduroy) занялись исследованием указанного выше явления. Последний автор показал, что, в результате засева бактериофагного фильтра, можно получить с некоторыми бактериальными штаммами (это явление никогда не наблюдается с другими) появление на агаре (агар с лактозой и лакмусовой настойкой кажется наиболее благоприятной средой) зон, потерявших блеск, ставших матовыми.

Если производить пересевы сериями с этих матовых зон, то получается, вначале, культура, состоящая из мельчайших гранул, а затем возникают мельчайшие, обнаруживаемые лишь в лупу, колонии.

Смит и Иордан (Smith et Jordan) получали постоянно прохождение протобактерий сквозь свечу Шамберлана L_5 , при работе со всеми штаммами дифтерийной палочки; этот опыт подтвержден Одюруа (Hauduroy), который сумел получить культуру дифтерийной палочки, засевая профильтрованный дифтерийный токсин.

Как трактовать эти фильтрующиеся элементы? Общеизвестно, что морфологически обособленное ядро у бактерий не обнаруживается; ядро появляется лишь у простейших водорослей (альги). Шаудин (Schaudinn), желая дать объяснение непонятному факту существования автономной клетки без ядра, выдвинул гипотезу о наличии в бактериальном теле ядра в диффузном состоянии, не приняв во внимание того, что ядро, по самому своему определению, есть морфологически обособленная единица, тогда как выражение „диффузное ядро“ предполагает интимное перемешивание хроматина и цитоплазмы в клетке, т. е. это определение только подтверждает общеизвестное положение об отсутствии изолированного ядра у бактерий.

Мне кажется более логичным следующее гипотетическое допущение: бактерия не является клеткой в гистологическом смысле

этого термина, она есть лишь агрегат гранул, названных мною протобактериями. Протобактерия, освободившаяся, при определенных условиях, от синцитиальной связи, способна к автономному существованию.

Протобактерии таким образом, могут быть рассматриваемы как „фильтрующийся вирус“, а бактерия—как плазмодий, образовавшийся в результате соединения миллионов протобактерий.

Г Л А В А II.

Б А К Т Е Р И О Ф А Г.

1. СВОЙСТВА БАКТЕРИОФАГНОГО КОРПУСКУЛА.

Р а з м е р ы.

В 1920 г. мною опубликованы опыты с ультрафильтрацией, устанавливающие, что размеры бактериофажных корпускулов равны, приблизительно, размерам мицеллы сывороточного глобулина, т. е. что их диаметр достигает, исходя из расчетов, произведенных для глобулина, 10—12 миллимикрон.

Материалом, служившим мне для определения размеров бактериофажного тельца, был чрезвычайно мощный дизентерийный фаг

Праусниц (Prausnitz), пользуясь, в качестве сравнительного штандарта, мицеллой коллоидального серебра, находит, все с помощью тех-же опытов ультрафильтрации, диаметр бактериофага равным, приблизительно, 20 миллимикронам. Бехгольд (Bechhold) исчисляет их диаметр в пределах от 20 до 30 миллимикрон. Последнему автору, с помощью чрезвычайно чувствительной методики, удалось наблюдать бактериофажные тельца в ультрамикроскопе, путем наложения на их поверхность коллоидального золота; тот же метод позволил ему получить очень демонстративные фотомикрографии бактериофага и тельца вакцины (Cow-rox).

Новыми работами Шлессингера (Schlessinger), произведенными в лаборатории Бехгольда с одной стороны, и опытами Ильфорда (Elford) и Эндрюса (Andrews) с другой, устанавливается, что размеры частиц различных рас бактериофага варьируют в широких пределах: самые малые имеют диаметр порядка 8 миллимикрон, а наиболее крупные—порядка 50—55 миллимикрон—по Ильфорду и Эндрюсу и 79—90—по Шлессингеру. Означенные авторы высказывают предположение, что эти размеры находятся в зависимости от вида бактериофага, и Барнет (Burnet) даже основывается на этом факте для отрицания единства вида бактериофага. Мною уже давно обращено внимание на то, что размеры бактериофажных корпускулов, могут колебаться в относительно значительных пределах („Le Vac-

teriphage et son comportement"). Я снова занялся этим вопросом в последние годы и убедился в том, что размеры корпускулов колеблются вне зависимости от вида бактериофага, но находятся в тесной связи с вирулентностью взятой расы бактериофага. Так, например, диаметр частиц очень активного дизентерийного бактериофага равнялся 10 миллимикронам и был совершенно одинаков с диаметром очень активного стафилококкового бактериофага. Диаметр же слабо активных шига и стафилобактериофагов был значительно больше, достигая 50—60 миллимикрон; следовательно, невозможно классифицировать бактериофагов по признаку размеров частиц.

Мне кажется более правильным следующее предположение: не представляют ли собой более крупные частицы лишь агрегаты элементарных частиц, каждая из которых обладала бы размерами порядка от 8 до 10 миллимикрон. Мне пришлось, в целом ряде случаев, наталкиваться на резкие изменения вирулентности у некоторых бактериофагов; изменения, сопряженные с соответствующими количественными вариациями частиц фага (мы уже видели, что вирулентность и число бактериофагных частиц не находятся в прямой связи между собой). Подобная корреляция может быть объяснена лишь конденсацией или диссеминацией бактериофагных частиц. Это допущение объясняет парадоксальный факт, наблюденный Дреером (Dreyer) и Кемпбелл Рентом (Campbell Renton), установившим, что определенное объемное количество фага дает 500 негативных колоний, а тот же объем фага, разведенный в 10 раз, дает 80 негативных колоний. Мною проверено, что эта „мультипликация“ в результате разведения наблюдается только при работе с бактериофагами слабой активности, следовательно, обладающими большими частицами, и не наблюдается, как экспериментируешь с мощными бактериофагами, обладающими малыми диаметрами частиц.

Бактериофаги с крупными частицами были сфотографированы Барнетом с помощью микроскопа Барнара (Barnard), в ультрафиолетовом свете, а Шлессингер добился осаждения их с помощью центрифугирования. Кстати, этими опытами Шлессингера и совершенно недавними опытами Грациа (Gratia, 1935 г.) подтверждается мое указание о возможности осадить центрифугированием бактериофагные корпускулы, опубликованное мною в 1921 г. и долгое время опровергавшееся противниками корпускулярной природы фага.

Получение чистых суспензий.

До сегодняшнего дня, можно было получить чистые суспензии бактериофагных корпускулов с помощью двух приемов. Первый был

применен Бехгольдом: автор пропускает бактериофагный лизат через ультрафильтр, порозность которого рассчитана на прохождение одних лишь бактериофагных корпускулов. Этот первый фильтрат проводится им через второй, лишь настолько менее проницаемый фильтр, чтобы задержать одни лишь бактериофагные тельца, пропуская частицы меньших размеров; наконец, вся манипуляция заканчивается тщательной промывкой бактериофагных корпускулов, оставшихся на ультрафильтрующей мембране, дистиллированной водой.

Второй метод, указанный Арнольдом и Вайсом (Arnold et Weiss) и усовершенствованный Ашешовым, заключается в осаждении всех посторонних веществ липоидами. Я не останавливаюсь на описании подробностей этой методики: она детально изложена в работе Ашешова.

Имеется полная возможность убедиться в том, что полученные тем или иным методом бактериофагные тельца, взвешенные в определенной среде, свободны от бактериальных продуктов. Мы увидим из следующей главы, что повторные интравенозные инъекции кролику бактериофагного фильтрата вызывают появление в сыворотке обработанного животного двух категорий противотел: антибактериальных в ответ на введение растворенной бактериальной субстанции и специфического—антибактериофагического.

Введение кролику чистых суспензий бактериофагных корпускулов вызывает появление в его кровяной сыворотке лишь антибактериофагного противотела.

Устойчивость по отношению к температуре.

Устойчивость бактериофагных корпускулов по отношению к температурному воздействию чрезвычайно изменчива, в зависимости от рас бактериофага. Некоторые расы более чувствительны, чем бактерия, по отношению к которой они являются антагонистами, и разрушаются уже при температуре в 52° . Другие, гораздо более устойчивые, разрушаются лишь при 82° . Большинство разрушается десятиминутной экспозицией при температуре, колеблющейся от 60° до 74° . Я должен обратить внимание читателя на то, что все опыты, устанавливающие температуру разрушения взятой расы бактериофага, должны быть проделаны в капиллярных трубках из тонкого стекла (я считаю наиболее подходящими оттянутые капилляры Пастеровских пипеток), запаянных на пламени и полностью погруженных в водяную баню, точно урегулированную на нужном температурном уровне.

Температура разрушения бактериофага не находится ни в какой зависимости от свойств бактерий, лизированных им; так, например, между расами бактериофагов, растворяющими один и тот же штамм кишечной палочки—одни будут разрушаться при 50°, а другие окажутся устойчивыми к температуре в 80°.

Та или иная устойчивость к температурным воздействиям является, значит, свойством присущим самим корпускулам бактериофага. Это свойство не связано с вирулентностью, как это доказывают недавние опыты Сертича (Sertic) и Булгакова (Boulgakov): эти авторы выделили большое количество рас бактериофага, обладавших вирулентностью по отношению к одному и тому же штамму тифозной палочки. Температура разрушения этих рас колебалась в пределах от 68° до 80°; именно те бактериофаги, которые разрушались при 68°—оказались наиболее вирулентными.

Я только, что говорил „о температуре разрушения“; но, быть может, это выражение не вполне точно, т. к. мы обнаруживаем присутствие бактериофага, лишь в том случае, если он сохранил способность вызывать явление растворения бактерий последовательными рядами: ведь, „разрушение“ или „инактивация“ приведут к идентичному результату: отсутствию видимой бактериофагии.

В сотрудничестве с Позерским (Pozerski), мы показали, что если подвергнуть бактериофага воздействию предельной температуры, то путем повторных пассажей через чувствительную микробную культуру можно еще обнаружить появление бактериофагического процесса.

В наших опытах выявляется поле в 4° между температурой „инактивации“ (т. е., видимого разрушения), и температурой деструкции (т. е. истинного разрушения); получается такое впечатление, что, вначале, происходит понижение вирулентности бактериофага вплоть до полной потери этого свойства; за этим порогом—повышение температуры обуславливает тотальное разрушение бактериофага. Аналогичные факты давно установлены в науке в отношении вирулентности патогенных бактерий.

Зораб Нанавути (Sohrab Nanavutty) подверг исчерпывающему сравнительному изучению кривые разрушения бактериофажных корпускулов, с одной стороны, и кишечной палочки, с другой стороны, при различных температурах и применяя различные жидкие фазы. Он констатировал абсолютный параллелизм кривых разрушения одних и других и приходит к заключению, что бактериофаг состоит из живых единиц, взвешенных в жидкости, причем каждая единица имеет свою критическую летальную точку, совершенно также

как это имеет место в отношении бактериальных эмульсий. В противоположность этому, кривые разрушения энзимов (пепсина и трипсина) и бактериофага совершенно различны, ассиметричны.

Рамки температурных воздействий, о которых идет здесь речь, относятся к бактериофагам, суспендированным в фильтрате, содержащем в лизированном состоянии остатки бактериальных тел.

Эти растворимые вещества, как кажется, оказывают некоторое защитное, по отношению к температуре, действие на бактериофагные тельца, т. к. несколько опытов Вейса и Арнольда, произведенных с чистыми взвесями корпускулов, приводят к утверждению, что взвесь корпускулов в чистой воде разрушается при более низких температурах; реакция среды играет также значительную роль, т. к. при РН—ниже 7,0, т. е. в кислой зоне—температура разрушения фага понижается сравнительно с зоной щелочной.

Все то, что сказано выше—относится к бактериофагным тельцам, взвешенным в жидкости; тельца в высушенном состоянии противостоят гораздо более высоким температурам. Из опытов, произведенных мною совместно с Сертичем, вытекает, что, при условии полного высушивания (в пустоте, при низких температурах)—суспензии бактериофага и взвешивании, наново, сухого остатка в безводном липоиде, бактериофаг разрушается лишь при 102° — 104° . Кстати, это явление не характеризует, специально, бактериофага, но наблюдается также и у бактерий.

Большая сопротивляемость телец, лишенных воды, дает объяснение результатам опыта Дорен-де-Жонга (Doren de Jongh): этот автор установил, что споры *b. Megatherium*, носителя бактериофага (мы увидим, что это означает, из IV главы), могут быть прогреты до 102° в течении 2 минут и бактериофаг при этом не будет разрушен. Известно, что спора представляет собой как раз безводную среду, т. к. в ином случае, не было бы возможности объяснить того, что споры могут быть нагреваемы до 140° , не лопааясь при этом; если внутри споры содержались бы малейшие следы воды в свободном состоянии, то она, при подобной температуре, неизбежно испарилась-бы, и, напряжением своих паров, обусловила-бы разрыв оболочки споры.

Спора представляет собой одновременно, безводную среду, и, как нам известно, среду богатую липоидными веществами; ничего нет удивительного в том, что в подобной среде бактериофагные корпускулы могут проявлять устойчивость в течении двух минут к температуре в 102° , т. к. они выдерживают подобную температуру

и в том случае, когда они поставлены экспериментально в аналогичные условия.

Обратим внимание на то, что существование бактериофажных корпускулов внутри споры показывает реальность их проникновения во внутрь бактериального тела.

Вообще говоря, бактериофажные корпускулы менее устойчивы к термическим воздействиям—чем споровые формы и, при прочих равных условиях, более устойчивы чем вегетативные формы бактерий. Таким образом, можно, в среде содержащей оба начала, с помощью термических воздействий, разрушить бактериальные тела, оставив нетронутыми бактериофага, и это является способом, который может, в известной мере, заменить фильтрацию при отсутствии фильтрационных приспособлений. Само собой разумеется, что, когда имеешь дело с расами бактериофагов, особенно чувствительными по отношению к воздействию тепла (температура разрушения которых колеблется между 52—55°), может наблюдаться обратное явление: соответствующим прогреванием можно разрушить бактериофага, содержащегося в среде, оставляя нетронутыми находящиеся в ней бактерии.

Действие антисептических веществ.

Я установил, что бактериофаги являются более устойчивыми по отношению к действию различных антисептиков, чем вегетативные формы бактерий, будучи, в то же время, менее устойчивыми, чем споры. Ряд более поздних работ подтвердил мои первоначальные данные.

Вследствие обстоятельств, которые будут изложены мною к концу последней главы, я приступил к проверке первоначальных результатов. В первых моих опытах действие антисептических веществ проверялось после контакта их с бактериофагом в течении нескольких часов. В новых опытах я проверил действие малых доз различных антисептиков за период длительного контакта, доходящего до одного месяца. Эти дозы антисептиков (хлорамин, карболовая кислота) были выбраны таким образом, чтобы быть точно-достаточными для стерилизации в 24-х часовый срок бульонной эмульсии бактерий, за счет которой нами выращивался соответствующий бактериофаг. Эти опыты, еще нигде не опубликованные, показали, что чувствительность бактериофага к действию антисептических веществ—ничем не отличается от чувствительности вегетативных форм бактерий; разница заключается лишь в том, что требуется большая длительность воздействия антисептика. Например,

минимальная доза карболовой кислоты, достаточная для того, чтобы убить в 24 часа эмульсию тифозной палочки, в бульоне, содержащем миллион зародышей в одном куб. сантиметре, разрушит все бактериофагные корпускулы в 15-ти дневный срок.

Я обращаю внимание на этот, имеющий чрезвычайно важное практическое значение, момент, т. к. различные авторы предложили прибавлять разнообразные антисептические вещества к взвесям бактериофагов, предназначенных для терапевтических целей; подобный прием вызывает за несколько дней полное разрушение телца бактериофага, и, с этого момента, примененная жидкость является, конечно, лишенной всяких терапевтических свойств. Привожу характерный пример: один американский автор предложил продукт под названием „Merthyolat“, рекламируя его как бактерицидное средство, убивающее микробов в очень слабых дозах и совершенно не действующее на бактериофага. Коммерческая лаборатория не замедлила пустить в продажу лечебный препарат бактериофага с добавлением этого антисептического вещества.

Однако, Рэктин (Rakletien) доказал, что примененные дозы убивали бактериофага полностью в 5-ти дневный срок. Таким образом, этот коммерческий продукт содержал бактериофага лишь на этикетке. При изложении этого вопроса, я не считал нужным приводить цифры, т. к. это значительно растянуло бы нашу главу; нужно иметь в виду только, что устойчивость различных рас бактериофага по отношению к одному и тому же антисептику представляет резкую вариабильность, вариабильность тем более выраженную, что можно, путем постепенного привыкания, приучить бактериофагов переносить такие дозы антисептиков, которые в короткий срок разрушают обычных фагов. Суммируя, мы устанавливаем, что антисептики воздействуют на бактериофагные тельца таким же точным образом и в тех же дозах, что и на вегетативные формы бактерий (кишечная, дизентерийная палочка); разница заключается лишь в том, что действие антисептиков требует большего времени для своего выявления. С этой оговоркой, мы констатируем полную симметричность кривых разрушений фага и бактерий.

Ж и з н е с п о с о б н о с т ь .

Если рассматривать одну и ту же расу, то жизнеспособность фага тем выше, чем ближе интеркорпускулярная жидкость к РН 7,0; совершенно несомненно значение и химического состава среды: присутствие некоторого количества пептона и, в меньшей ме-

ре, аминокислот—производит, благоприятное действие на сохранение жизнеспособности бактериофага.

Громадное значение для сохранения жизнеспособности корпускулов имеет температура: оптимальной температурой является 0° Цельсия; при температуре 20—22° жизнеспособность бактериофажных телец страдает не на много, но при более высоких температурах она убывает все более и более быстро. Так, например, расы бактериофага, которые сохраняются живыми и вирулентными в течении многих лет, при температуре в 18—20°, не выдерживает больше 2 или 3 недель при температуре в 40° Цельсия.

Жизнеспособность корпускулов различных рас бактериофага, поставленных в одни и те же условия, чрезвычайно изменчива. Бактериофаг, у которого я констатировал наиболее резко выраженную жизнеспособность—это—раса шигафага, выделенная от выздоравливающего от бациллярной дизентерии в августе 1915 г.; этот бактериофаг обладал с первого же момента изолирования огромной мощностью; диаметр его корпускулов равнялся 8 миллимикронам. Я сохранил некоторое количество этого бактериофага в запаянных ампулах с 1916 г. В последующие годы содержимое одной ампулы подвергалось исследованию время от времени и всегда давало положительный результат в смысле наличия бактериофага, обладающего неизменной начальной вирулентностью. В 1931 г., т. е. спустя 15 лет от момента изготовления бактериофага, в 4 ампулах из 10 удалось еще обнаружить бактериофага, впрочем, в чрезвычайно незначительном количестве. Следовательно, этот срок представляет собой, для взятой расы, предельный срок сохранения жизнеспособности. С другой стороны, я установил для расы стафилобактериофага средней вирулентности, что все корпускулы погибли после 10-ти месячного хранения в запаянных ампулах при средней температуре г. Парижа.

Работая с очень вирулентной расой стафифагов, я установил в начале опыта, что наиболее устойчивые корпускулы были еще живы; спустя 22 месяца после изготовления бактериофага, тогда как спустя 26 месяцев—фильтрат оказался совершенно инертным. Селекционируя наиболее устойчивые корпускулы, я сумел добиться такого увеличения жизнеспособности, что 80% корпускулов оказалось еще живым и такими же активными как и в начале, после 4-х лет хранения в запаянных ампулах.

Как видно из приведенных наблюдений, жизнеспособность фага чрезвычайно варьирует от расы к расе и, в пределах одной и той же расы, может также представлять колебания в зависимости от условий, в которые мы ставим испытываемую расу.

Действие ультрафиолетовых лучей.

Бекером (Baker) и Нанавути (Nanavuti) недавно произведены чрезвычайно интересные опыты в направлении изучения действия лучистой энергии на фага. В начале, изучалось отношение к ультрафиолетовым лучам кишечной палочки и соответственного фага, а затем, авторы перешли к сравнительному изучению чувствительности к коротким световым волнам бактериофага и ферментов.

Привожу таблицу, подводящую итоги этим опытам:

Количество секунд, достаточных, чтобы свести к:

	10%	1%	0,1%	0,01%	0,001%
Бактериофаг	. 25	50	70	100	125
B. Coli .	. 15	25	30	34	37
Трипсин	300				
Гемолитический амбо- цептор	720				
Мальтаза	. 1800				
Лизоцим Флеминга . .	1800				

В другой серии опытов, если взять за единицу время разрушения кишечной палочки, мы получаем:

B. Coli	. 1
Шигафаг	. 2
Стафифаг	1 а 2
Трипсин и комплемент	. 20 а 30
Мальтаза и лизоцим .	. 120

Наконец, в третьей серии опытов, авторы испытывали действие различных частей спектра на B. Coli и соответствующего фага:

Количество секунд, достаточных для того, чтобы свести к:

	1%	0,1%	0,01%	0,001%
цельный спектр .	25	30	34	37
B. Coli 2650 A°	114	138	144	162
соотношение	. 4,5	4,6	4,2	4,4
цельный спектр .	50	70	100	125
Coli-фаг 2650 A°	. 210	312	420	540
соотношение	. 4,2	4,5	4,2	4,3

Авторы приходят к заключению, что фаг и кишечная палочка ведут себя в отношении лучистой энергии идентичным образом, тогда как действие лучей на энзимы—совершенно иного порядка. Сопоставляя свои изыскания с работами Риверса (Rivers), Гатеса (Ga-

tes), доказавших, что вирус оспы ведет себя в отношении лучистой энергии также, как и бактерии, авторы заключают, что поведение бактериофага идентично поведению вирусов и резко отличается от поведения ферментов.

Химическая природа.

Бактериофажное тельце не состоит из липоидов, т. к. фаг не растворяется в эфире; оно не должно быть сродни гликогену, т. к. содержащая его жидкость, прокипяченная после прибавления крепкой минеральной кислоты, не восстанавливает жидкости Фелинга. Так как с другой стороны, дело идет о субстанции, нерастворимой в воде и флокулирующей под воздействием насыщенного раствора серно-кислого аммония, а также и под влиянием кислот (изоэлектрический пункт находится при РН 4,2) нужно заключить, что бактериофажный корпускул состоит из протеина и нуклеопротоидов. Недавние опыты Барнета приносят этому взгляду окончательное подтверждение: указанному автору удалось вызвать агглютинацию корпускулов фага воздействием специфической антисыворотки, что подтверждается приложенными к работе прекрасными фотомикрографиями.

При настоящем состоянии наших знаний можно лишь высказать предположение, что фаги, принимая во внимание их размеры, и учитывая характеризующие их свойства, должны состоять или из элементарных протоплазматических мицелл, (это касается фагов диаметром от 8 до 10 миллимикрон) или из агрегатов различных количеств элементарных мицелл, для бактериофагов крупного диаметра (могущих доходить, как нам известно, до 90 миллимикрон).

2. БАКТЕРИОФАГНЫЙ КОРПУСКУЛ: КОЛЛОИДНАЯ МИЦЕЛЛА.

Коллоидное состояние вещества.

Я не претендую на изложение физико-химии коллоидных веществ, но значение этого вопроса так велико не только для изучения природы бактериофага, но и для понимания природы всех так называемых фильтрующихся вирусов, что я считаю необходимым установление некоторых общих точек зрения между мной и читателем на коллоидное состояние вещества ¹.

¹ Ряд бактериологов глубокомысленно утверждает, что, с того момента, как бактериофаг обладает некоторыми общими свойствами с коллоидами, не может быть и речи о нем, как о живом существе. Возможность подобных высказываний уже достаточна для того, чтобы вынудить меня уточнить некоторые моменты, имеющие существенное значение для правильной постановки вопроса.

Собственно говоря, не существует коллоидных веществ, а существуют лишь коллоидные системы; сухой белок, желатина, колларголь в сухом состоянии суть вещества, не представляющие особых свойств, если не то, что, взвешенные в воде, они находятся в особом состоянии равновесия и образуют, + с этой последней „коллоидную систему“.

Коллоидная система, есть система двухфазная, причем каждая из этих двух фаз может быть твердой, жидкой или газообразной; все комбинации возможны, включительно до того, что обе фазы могут быть твердыми (углерод в чугуне), одна из них твердая, а другая газообразная (дым в воздухе), и т. д.; но наиболее частым случаем, является система, состоящая из жидкости, содержащей в взвешенном состоянии твердое вещество.

Наше внимание занимает исключительно лишь тот случай, когда жидкой фазой является вода (чистая или содержащая различные тела в растворе, т. к. это является наиболее частым случаем в биологии). Для образования коллоидной системы единственным обязательным и достаточным условием является нерастворимость твердого тела, образующего дисперсную фазу в жидкости; но не следует упускать из виду, что коллоидное состояние проявляется лишь начиная с определенной степени дисперсности твердого вещества в жидкой фазе.

Попробуем поместить в стакан воды кусок платины, объемом примерно, в 1 куб. сантм. Введение куба платины в воду обусловит возникновение ряда явлений:

1) куб упадет на дно сосуда; быстрота падения зависит от плотности, объема куба, а также от вязкости жидкой среды;

2) вокруг куба создастся оболочка из воды, толщиной меньше нескольких милдмикронов, чрезвычайно плотно прилегающая к кубу; нужно нагревать металлическую поверхность, пришедшую в соприкосновение с водой, до температуры свыше 500 градусов, чтобы эта вода улетучилась;

3) молекулы воды обладают кинетической энергией: они ударяются о стенки куба, но т. к. эти толчки чрезвычайно многочисленны, и имеют место на каждой из сторон куба—то эффекты этих ударов уравниваются; в силу закона больших чисел, давление на каждую из сторон куба оказывается одинаковым.

4) вода, даже при обычной температуре, представляет определенный коэффициент диссоциации, который растет быстро, вместе с температурой.

В результате этой диссоциации в жидкости возникают ионы $H+$ и $OH-$ (если вода содержит соли в растворенном состоянии, что

всегда имеет место в биоколлоидах, то эти соли частично диссоциируются на ионы). Вокруг платинового куба образуется двойной слой электричества, т. н. слой Гельмгольца (Helmholtz): тогда как на поверхности металла—находится слой ионов, обладающих отрицательным зарядом (ОН—или основные ионы), в жидкости расположен, напротив этого слоя, второй, образованный ионами обратного знака (Н + или металлические ионы). Таковы явления, определяющие коллоидальное состояние. Эти явления имеются налицо даже в тех случаях, когда дело идет о телах объемом в кубический сантиметр и даже более, но необходимо указать, что интенсивность этого явления является функцией поверхности: если находящийся в воде фрагмент слишком обьемист, то действие коллоидальных условий ничтожно, но если попробовать фрагментировать далее наш куб из платины, что возможно сделать или при помощи электрической пульверизации по Бредигу (Bredig) или при помощи механического дробителя (т. н. коллоидального дробителя), то обьем платины в жидкости останется равным себе, но поверхность будет увеличиваться прогрессивно:

Поверхность 1 куба обьемом в 1 кв. сантим. 6 кв. сантим.
тот-же куб, разделенный на фрагменты в 1 кв. миллим:

поверх. равна .	60	„
1 микрон .	6	метров
100 миллимикрон	. 60	
1 миллимикрон	6000	

Для каждого из этих маленьких фрагментов, этих гранул, по общепринятой терминологии, возникающие из дробления явления не будут принципиально отличаться от тех, которые были нами описаны для куба в 1 сантиметр, но эффекты будут расти параллельно с ростом поверхности.

1. Быстрота падения находится в обратном отношении к квадрату диаметра частицы. Если вода, содержащаяся в сосуде, имеет 20 сантим. глубины, то фрагмент, в 1 миллиметр диаметром, упадет на дно в 1 секунду. Гранула в 100 миллимикрон упадет на дно спустя 6 лет, а для падения на дно гранул в 1 миллимикрон диаметром—понадобится 600 лет.

2. Жидкая атмосфера, толщиной в 10 миллимикрон, может быть совершенно неучитываема, когда она покрывает поверхность сферы в 1 сантим. диаметром, но на такой же сфере, диаметром в один микрон и меньше, она может вызвать явления, которые полностью видоизменяют свойства вещества. Ионы, обуславливающие электрический заряд гранулы, находятся на ее поверхности, в атмосфере-окружающей их жидкости и, по всей вероятности, разница в со-

ставе жидкой атмосферы, окружающей гранулы, обуславливает своеобразие в свойствах коллоидов, называемых гидрофобными.

3. Толчки молекул воды на противоположных сторонах крупного фрагмента твердого вещества уравниваются; но когда эти фрагменты имеют лишь микрон или менее в диаметре—поверхность их становится в достаточной степени малой, для того, чтобы удар молекулы воды на одной стороне частицы не уравнивался бы в то-же мгновение толчком другой молекулы, направленной в противоположную сторону. От каждого, не нейтрализованного толчком в противоположном направлении, удара—возникает передвижение гранулы; эти передвижения становятся все более и более многочисленными по мере уменьшения размеров гранул; одновременно, вследствие меньшей массы частиц, перемещение становится все более и более значительным. Эйнштейн (Einstein) доказал, что передвижение сопровождается вращательным движением. Это постоянное движение частиц диаметром порядка $1/1000$ миллиметра было наблюдено впервые Брауном (Brown) и называется брауновским движением.

Замедление падения, находящееся в прямой зависимости от диаметра гранул, с одной стороны и брауновского движения, с другой, обуславливает то, что, начиная от определенной величины, мы наблюдаем осаждение плотных частиц, взвешенных в жидкости.

Брауновское движение является причиной другого явления: Дорн (Dorn) доказал, что каждый раз, когда какая нибудь частица движется в жидкости под действием иной силы чем сила электричества—развивается электрический потенциал. Величина этого потенциала находится в прямой зависимости от быстроты движения частиц.

4. Двойной электрический слой Гельмгольца принадлежит к числу явлений, связанных с поверхностью. И является понятным, что чем больше поверхность по отношению к определенному объему, или, проще говоря, чем больше фрагментация, диссеминация вещества, тем большее возрастание количества ионов на единицу поверхности мы наблюдаем: это число, пропорционально к массе, в 6 миллиардов раз больше для куба, сторона которого равняется одному миллимикрону, чем для куба стороной в один миллиметр.

Известно, что, в электрическом поле, положительные ионы направляются к отрицательному полюсу, а отрицательные ионы направляются к положительному полюсу (электрофорез). Когда масса твердого вещества сколько нибудь значительна, передвижение ионов в электрическом поле не может производить на него воздействия, но с того момента, когда масса взятого твердого вещества,

по мере фрагментации, переходит определенную нижнюю границу—передвижение ионов отразится на судьбе самих частиц. Начиная с частиц размером в 100 миллимикрон, а для меньших частиц а fortiori,—ионы внешнего слоя, подвижные и входящие в состав жидкой фазы, направляются к полюсу противоположного знака; ионы же внутреннего слоя, фиксированные на грануле и входящие в состав дисперсной фазы, направляются к другому полюсу, увлекая с собой частицы. Как мы видим, коллоидное состояние вещества обуславливается свойствами поверхностей, рождающимися при погружении твердого тела в жидкость; результаты свойств поверхностей дают себя чувствовать по мере роста соотношений поверхности к объему твердого тела и, с определенного предела фрагментации вещества, начинают обуславливать новые свойства материи, именуемые коллоидальными. В действительности нет никакой возможности указать точную границу, от которой начинается коллоидальное состояние вещества ¹.

Оно возникает постепенно и интенсифицируется по мере уменьшения размеров гранул. Зона максимальной интенсивности находится у порога приближения гранул к массе молекул. По отношению к гранулам, имеющим один и тот-же химический состав, коллоидальное состояние варьирует от величины гранулы и поведение коллоидальной системы должно быть различным в случае, если эти гранулы имеют в диаметре 90—40—20 или 8 миллимикрон. Учитывая вышесказанное, читатель не специалист яснее себе представит, что различные расы бактериофага, обладающие различными размерами частиц, могут, в определенных пределах, представлять своеобразие свойств. Привожу общеизвестную классификацию Оствальда (Ostwald), цифры которой отвечают диаметру гранул в миллимикронах:

Дисперсные системы.

Дисперсии
(гранулы, большей величины, чем 100 микрон)

Дисперсоиды
(гранулы от 1—100 микрон)

Дисперсиды
(гранулы, меньше их размеров, чем 1 микрон)

Суспензии или эмульсии

Коллоидные системы

Растворы.

¹ Так, например, бактерии, в особенности бактерии наименьших размеров, хотя они значительно превосходят пределы размеров принятых, как обуславливающие возникновение коллоидальных систем; все-таки являются носителями, хотя и редуцированных, коллоидных свойств: адсорбция фильтрами, слабо выраженное броуновское движение, и, главным образом, электрический заряд.

Фрагмент вещества, имеющий диаметр, колеблющийся между 100 и 1 миллимикронами, называется гранулой; когда такие гранулы погружены в воду, то развивается ряд феноменов, описанных выше, возникает коллоидальная система, гранулы приобретают электрический заряд; гранула, носительница электрического заряда— есть мицелла.

Много споров возникло вокруг источника электрического заряда мицеллы. Вначале это явление приписывалось ионам электрического слоя Гельмгольца, но затем эта интерпретация была отвергнута, т. к. слой Гельмгольца двойной и внешний слой, электрический знак которого противоположен внутреннему, должен нейтрализовать его полностью; следовательно, частицы должны быть нейтральными.

Бредиг затем объяснил потенциал мицеллы, как результат поверхностного натяжения, но неясность продолжает иметь место, т. к. поверхностное натяжение тесно связано с существованием двойного слоя Гельмгольца.

В действительности, не входя в обсуждение теоретических тонкостей вопроса, достаточно заметить, что внутренний слой, тесно связанный с гранулой, движется вместе с ней и является неотъемлемой частью дисперсной фазы; ионы же внешнего слоя являются интегрирующей частью жидкой фазы, не следуют за движением частиц, и постоянно возобновляются: эти факты установлены экспериментально (опытами электрического осмоса, например).

Несомненно, что гранула имеет собственный электрический заряд. Заметим, что в золе брауновское движение и коллоидальное состояние неотделимы одно от другого и исчезают одновременно. Каково бы ни было его происхождение, но лишь электрический заряд придает мицелле ее коллоидные свойства. Известно, что частицы, заряженные одноименным электричеством, взаимно отталкиваются, тогда как частицы, заряженные разноименным электричеством, притягиваются друг к другу; в коллоидной системе мицеллы не имеют никакой тенденции к аггломерации, а наоборот отталкиваются друг от друга тем энергичнее, чем больше величина носимого ими электрического заряда по отношению к их массе, следовательно, чем меньше их размеры. Учитывая, что интенсивность заряда колеблется в зависимости от диаметра гранул, химической их природы, а также химического состава жидкой фазы (РН), и для того, чтобы дать представление о размерах этого заряда, мы здесь напомним, что Фрейндлих (Freundlich) определил потенциал

мицеллы золя серебра в $99 \cdot 10^{-19}$ кулонов; принимая, что электрон $-1.59 \cdot 10^{-19}$ кулонов, определяем, что заряд мицеллы серебра состоял из 62 электронов или, что то же самое, из 62 моновалентных анионов.

Коллоидное равновесие.

Коллоидная система характеризуется своей неустойчивостью, всякое изменение жидкой фазы вызывает модификацию дисперсной фазы и, как следствие, нарушение равновесия всей системы. Прибавление ионов вызывает немедленное изменение равновесия в том или ином направлении: если, благодаря этому прибавлению, мицеллярный заряд оказывается увеличенным, возникает фрагментация этих мицелл и большая устойчивость всей системы; если же, наоборот, заряд уменьшается, то равновесие становится менее устойчивым, а при достижении полного разряда — совершенно нарушается; в этом последнем случае мы наблюдаем флокуляцию дисперсной фазы.

Если вместо того, чтобы добавлять ионы к коллоидальной системе, мы извлекаем их путем диализа, мы также ведем к нарушению равновесия системы. Прибавление кислот (ионы H^+) разряжает электроотрицательные мицеллы и вызывает их флокуляцию; ультрафиолетовые лучи действуют таким же образом, т. к. они обуславливают освобождение электронов; добавление щелочи (ионы OH^-) вызывает разряд электроположительных ионов; излучение радия производит аналогичный эффект, т. к. оно вводит в коллоидную систему электроны (т. е. элементарные электроотрицательные заряды).

В некоторых случаях можно производить субституцию (подмену) одних ионов другими. Эти субституции, впрочем, служат доказательством того, что дело идет не о химических сочетаниях, но лишь о физической фиксации. Например, можно легко фиксировать на растительных волокнах ионы железа, которые в дальнейшем невозможно отделить даже путем повторных отмывок; но достаточно поместить волокна в раствор калийных солей, чтобы добиться субституции калийными солями железистых солей. Если мы имеем дело с ионами противоположных знаков, то мы будем наблюдать глубокое нарушение равновесия. Но если мы имеем дело с ионами одного и того же знака, коллоидное равновесие может, модифицируясь в той или иной степени, сохраниться. Если смешать две гетерологические коллоидальные системы (закрывающие в себе мицеллы различных знаков), то происходит взаимная флокуляция обеих диспер-

сных фаз. Если системы гомологичны, то образуется новая смешанная система с видоизмененным коллоидным равновесием.

Коллоидное равновесие может также самопроизвольно видоизменяться с течением времени. Французский ученый Август Люмьер (Lumiere) исходя из этого факта, выставил гипотезу о том, что старение всякого организма неизбежно, т. к. оно является результатом флокуляции коллоидов организма, возникающей спонтанно, после определенного срока жизни.

Эта теория могла бы быть правильной по отношению к изолированному организму, не имеющему никакой связи с окружающей средой, как, например, изолирован коллоидный раствор в герметически закупоренном сосуде.

Но она не может быть применена к организму, находящемуся в связи со средой, т. к. всякое видоизменение среды отражается на состоянии коллоидальной системы, и ничто не исключает возможности, что возникшая под внешним воздействием, модификация не поведет к повышению стабильности всей системы.

Такое повышение стабильности могло бы быть осуществлено путем субституции ионов, как это может быть произведено экспериментальным порядком по отношению к некоторым золям алюминия (опыт Жангу—Gengou) при прибавлении ионов лимонной кислоты.

Но все это, при настоящем состоянии наших знаний, представляет собой еще чрезмерно сложную проблему. Мы можем сказать лишь, что неправильность теории Люмьера доказана на практике (Кареллем—Carrel), который продолжает культивировать сериями с 1911 г. (т. е. около 25 лет) мышечную ткань цыпленка, причем получающиеся культуры обладают той-же степенью жизнеспособности, как и первоначальные. Сам цыпленок погиб бы давно от старости, но коллоидальное равновесие все еще продолжает сохраняться в культивируемых в искусственных условиях клетках, остающихся вечно юными.

Вирусы, рассматриваемые как коллоидные мицеллы.

Я упомянул о том, что коллоидные мицеллы могут иметь электропозитивный или электронегативный заряд. Следует обратить внимание на то, что знак коллоидной мицеллы обратен знаку иона, образованного тем же самым телом. Например, металлические ионы электропозитивны, а мицеллы металла электронегативны. Отсюда следует, что мицеллы амфотерного химического соединения должны менять свой знак в зависимости от реакции жидкой фазы, нуклеи-

ины, нуклеопротеиды (входящие в значительной части в состав корпускулов вируса) могут играть роль слабой кислоты или слабого основания. В щелочной среде (или нейтральной, или слегка кислой) протеиновые мицеллы несут электроотрицательный заряд, но, начиная с определенного РН, они приобретают противоположный знак, вследствие субституции ионов, составляющих этот заряд. РН, при котором имеет место эта субституция, называется изоэлектрическим пунктом; он колеблется, для рассматриваемых соединений, вокруг $\text{РН}=4,5$.

Если придерживаться классификации дисперсных систем по Оствальду, то окажется, что не только бактериофаги, но и все так называемые фильтрующиеся или инфрамикроскопические вирусы входят в категорию суспензидов; будучи взвешенными в естественной для них среде (в воде, содержащей в растворенном состоянии разнообразные тела), они образуют коллоидные системы, их поведение может быть уподоблено поведению коллоидальных мицелл, они являются „живыми коллоидными мицеллами“ и их следует изучать с этой точки зрения ¹.

Никогда не нужно упускать из виду, что коллоидные системы находятся в состоянии неустойчивого равновесия: фильтрующиеся вирусы являются по своей природе чрезвычайно изменчивыми; доказательство этому приводится на каждой странице нашей работы. Изменчивость является доминирующим признаком также и бактериофага.

Приводимые мною объяснения имеют целью выявить глубокие причины variability бактериофага.

Коллоидное равновесие бактериофага.

Рассмотрим некоторые из свойств мицеллы бактериофага. Начиная с 1918 г., я неоднократно проверял тот факт, что, если прибавить к питательному бульону стерильного колларголя (коллоидального серебра с электронегативными мицеллами), то среда сохраняет свои питательные свойства и может дать начало росту ряда бактерий: палочкам дизентерии, брюшного тифа, кишечной палочке, стафилококку; бактериофагия имеет место в этой среде совершенно нормальным образом, как в обычном бульоне ².

¹ Автор этой книги занимал в Иельском университете с 1927 по 1933 г. кафедру протобиологии и читанный им курс был изложен в указанном духе. Этот курс, пока еще нигде не изданный, автор имеет в виду опубликовать на русском языке.

² Является совершенно непонятным, каким образом некоторые авторы рассматривают коллоидальное серебро, как вещество антисептическое. ¹

В противовес этому, бактериофагия не имеет места в бульоне к которому добавлен электроположительный коллоид. Это показывает, что бактериофаг является носителем отрицательного заряда. Другой факт, а именно то, что кислотность среды тормозит действие бактериофага, согласуется с предыдущим. Ряд авторов, (между ними Тод (Todd), Бехгольд), проверили прямыми опытами электрофореза, что бактериофагные корпускулы направляются к положительному полюсу; следовательно, они являются носителями отрицательного электрического заряда.

Однако, нужно заметить, что некоторые авторы не получили переноса частиц бактериофага в электрическом поле, и это явление вполне непонятно. Мы убедились в том, что заряд частицы тем больше, чем меньшими размерами обладает сама частица. Отсюда следует, что бактериофажное тельце, диаметром в 9 миллимикрон является носителем, пропорционально к своему объему, заряда в тысячу раз большего, чем корпускул диаметром в 90 миллимикрон. Следовательно, первые будут переноситься в электрическом поле в тысячу раз быстрее, чем вторые; иначе говоря, начиная с определенного диаметра частицы, ее перенос в электрическом поле может оказаться неуловимым.

Следовательно, результат опыта находится в зависимости от того, какая раса бактериофага применена. Так, например, д-р Сертич, желая определить заряд бактериофага с крупными частицами (в дальнейшем будет еще идти речь об этом бактериофаге, сецернирующем лизин в большом избытке) не обнаружил никакого уловимого переноса этих частиц в электрическом поле. Техника и приборы в данном случае были безупречны, т. к. этот результат был проверен Пьером Жираром (Pierre Girard) в Институте биологической физической химии в Париже (Institut de physico-chimie biologique).

Аппельманс (Appelmanns) установил, что бактериофагные тельца быстро разрушаются под воздействием ультрафиолетовых лучей а Брютзерт (Brutsaert) обнаружил, что они не чувствительны к излучению радия. Это как раз то, что имеет место в отношении частиц, носительниц отрицательного заряда.

Было бы слишком долго излагать здесь все существующие теории фильтрации. Будет достаточным сказать, что на поверхности фильтрующих каналов существует двойной электрический слой, расположение которого различно в зависимости от вещества фильтра. В фильтрах из каолина (Шамберлана) и инфузорной земли Беркефельда) внутренний слой образован электронегативными ионами: при прохождении через подобные фильтры не может быть

адсорбции стенками фильтра мицелл, также несущих отрицательный заряд; следовательно эти мицеллы свободно проходят фильтр и могут быть обнаружены в фильтрате.

Бактериофагные корпускулы проходят через эти фильтры (в тех случаях, разумеется, когда жидкость имеет щелочную реакцию).

Что-же касается фильтров из гипса, то тут внутренний слой состоит из электропозитивных ионов, так что он является проходным только для электропозитивных частиц. Мицеллы же электроотрицательные разряжаются, флокулируют и адсорбируются стенкой фильтра. В крайнем случае, можно было бы профильтровать взвесь бактериофага через гипсовый фильтр, но для этого надо было бы предварительно добавить к бульону некоторое количество слабой кислоты, точно достаточной для того, чтобы слегка перейти изoeлектрический пункт (РН 4,2); мицеллы, приобретающие в таком случае, электропозитивный заряд, могли бы пройти сквозь фильтр ¹.

Различные авторы делали попытки получения бактериофагных тел в чистоте, освобожденными от всяких следов бактериальных протеинов, используя в этих целях их коллоидные свойства.

Гильдемейстер (Gildemeister), Герцберг (Herzberg) в 1924 г. адсорбируют корпускулы, взвешенные в кислой среде (РН 6,0), путем прибавления каолина или инфузорной земли, промывают их многократно (с промежуточным центрифугированием) подкисленной водой, и, наконец, элюируют щелочной раствором (аммиак N/100; в этих условиях получалось следующее: исходный бактериофаг активен в разведении 10^{-10} , жидкость, после адсорбции каолином или инфузорной землей, активна в разведении 10^{-8} , и, наконец, жидкость после прибавления аммиака оказалась активной лишь в разведении 10^{-6} .

Праусниц и Фирле (Firle) частично подтвердили эти опыты.

Недавно Олитский (Olitski) и Клигер (Kliger) обнародовали свои результаты: они утверждают, что им удалось, с помощью каолина, полностью извлечь из жидкости корпускулы бактериофага.

Бехгольду и Шлессингеру удалось получить адсорбцию 99% корпускулов с помощью геля кремневой кислоты, содержавшей 5% хлорного серебра.

¹ Подобная методика не может быть рекомендована, т. к. бактериофагные тельца чувствительны по отношению к кислоте. Надо было бы, во всяком случае, подкислять среду лишь к моменту фильтрации и нейтрализовать фильтрат сейчас же после прохождения через фильтр. Несмотря на эти предосторожности, большинство корпускулов при этой процедуре разрушается.

Так как это касается чрезвычайно важных, со многих точек зрения, вопросов ¹, я попросил двух моих ассистентов в Иэле, Ректина и Хунта, (Hunt), проверить эти результаты. Опирируя с различными расами бактериофага, взвешенными в бульоне, при различной концентрации водородных ионов, указанные авторы ни в одном случае не могли достигнуть полной адсорбции, каково-бы ни было количество добавленного каолина. Привожу таблицу, резюмирующую наиболее благоприятные из опытов (опыт осуществлен со стафилофагом при точном применении техники Гильдемейстера).

	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}
Исходная взвесь .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
После прибавления каолина .	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Первая отмывка .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2-я отмывка . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3-я „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4-я	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Жидкость после элюирования .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

+бактериофаг присутствует в жидкости,

—бактериофаг отсутствует в жидкости.

Ректин и Хунт обращают наше внимание на то, что авторы, работавшие над рассматриваемым вопросом (в том числе Бехгольд и Шлессингер), полагали, что раз бактериофагные корпускулы исчезли из жидкости, то, следовательно, они были адсорбированы и могли быть рекуперированы. Однако, это оказалось не соответствующим действительности, т. к. 99% корпускулов гибнет, или, во всяком случае, перестает существовать как агенты, могущие паразитировать на бактериях.

Таковы опыты, произведенные до сегодняшнего дня, в прямой связи с коллоидным состоянием бактериофагных взвесей и, я повторяю,—уже сейчас совершенно ясно, что все поведение фильтрующихся вирусов (и бактериофагов в частности), находится в зависимости от коллоидных свойств этих существ.

¹ Бехгольд и Шлессингер, например, предложили использовать в терапевтических целях адсорбированные тельца бактериофага. Опыты Ректина и Хунта доказывают, что подобная методика не достигает цели, т. к. большинство адсорбированных корпускулов разрушается.

3. ПРИСПОСОБЛЯЕМОСТЬ БАКТЕРИОФАГНОГО КОРПУСКУЛА.

Приспособляемость к меняющимся условиям существования чрезвычайно резко выражена у бактериофага: совершенно несомненно, что он является живым существом; обладающим этой способностью в наиболее ярко выраженной степени. Да оно и кажется вполне логичным: по мере усложнения, под'ема на высшую ступень биологической лестницы, живых существ—свойство приспособляемости у них ослабляется, т. к. каждый орган работает согласованно с организмом в целом и адаптабельность организма в целом должна разлагаться на отдельные приспособляемости каждого из его органов; означенное приводит к необходимости точной координации целой серии элементарных первичных приспособляемостей. Достаточно, чтобы один единственный орган не смог приспособиться, для получения нарушения равновесия функционирования организма в целом, ведущего к смерти.

В противоположность этому, приспособляемость протоплазматической мицеллы элементарна и не вызывает необходимости в координации, что позволяет ей осуществиться легче и быстрее.

С 1921 г. я уже указал на возможность приспособить бактериофаг к губительному для него действию глицерина, а затем, с 1922 г., я указал на возможность прогрессивного приспособления фага к высоким концентрациям кислоты. В первой главе мною было приведено несколько примеров, повышения вирулентности бактериофага, путем последовательных пассажей за счет чувствительного микроба. Этот факт в настоящее время общеизвестен.

Разве все это не является бесспорным проявлением свойства приспособляемости?

Я считаю нужным повторить здесь то, на что я указывал много раз подряд в предыдущей главе: что вариабильность бактериофага чрезвычайно велика, что некоторые расы бактериофага пользуются в высокой мере свойством приспособляемости, тогда как у других это свойство очень слабо выражено. Авторы, которые хотят осуществить эти опыты проверки свойства приспособляемости фага к тем или иным условиям, должны будут приступить к производству своих опытов, манипулируя не с одной расой, а выделяя серии фагов. Они всегда добьются выделения рас, дающих указанные здесь результаты.

Произведем обзор последних экспериментальных работ в этой области.

Приспособление к химическим воздействиям.

Шурман (Schurmann), работавший в моей лаборатории в Лейдене, повторил опыты приспособления бактериофага к растущим степеням кислотности. Для своих опытов он избрал бактериофага, активного в отношении дизентерийной палочки Флекснера и вызывающего тотальный лизис этого микроба, в среде РН 8,2; уменьшая постепенно РН среды, Шурман осуществил 47 последовательных пассажей; до РН 6,5—приспособление было быстро осуществлено, но, по мере понижения концентрации свободных водородных ионов, фаг приспособлялся все с большим трудом. Привожу сводку окончательных результатов.

Бульон	Культура пал. Флекснера	Бактериофаг	Результат
РН5,8	1 кап.	5 кап. 47 пассажа	Полный лизис
РН8,2	1	5 47 „	„
РН5,8	1, „	Контроль (без бактериофага)	Отсутствие лизиса
РН5,8	1	5 кап. не адаптиров.	„
РН8,2	1	5	Полный лизис

Ашешову также удалось адаптировать бактериофага к условиям растущей кислотности среды.

Вольф и Янсен (Wolf und Janzen) сумели приспособить бактериофага к перенесению высоких доз некоторых антисептиков, в том числе и хинозоля (авторы работали с колибациллярными, тифозными, дизентерийными и стафилококковыми бактериофагами); Шурман подтвердил эти опыты.

Праусниц (Prausnitz) в целом ряде, технически абсолютно безупречных, опытов показал приспособляемость бактериофага анти-Шига к действию карболовой кислоты, сулемы и хлорамина.

Привожу один из его опытов с карболовой кислотой.

Праусниц проводит 33 пассажа бактериофага, прогрессивно увеличивая количество карболовой кислоты в среде. Затем, он определяет устойчивость этого бактериофага в бульоне, содержащем 1¹/₂% карболовой кислоты.

Тот же самый опыт производится им с бактериофагом, не подвергшимся опытам привыкания к карболовой кислоте.

Жизнеспособные корпускулы после:	Бактериофаг	
	Адаптированный	Неадаптированный
24 часов	2400	3
48 часов .	2000	0
96 часов	200	0

Подобный опыт имеет цену математического доказательства. Зейферт, проверяя опыты Праусница, подтвердил их в отношении переданного ему Праусницей бактериофага, но не получил никакой адаптации, работая с другой расой бактериофага. Я выше дал объяснение возможности подобной неудачи. Если бы Зейферт, желая дать себе отчет в причинах такой разницы в поведении, продолжал бы проверку, вводя в эксперимент возможно большее количество различных рас бактериофага, он бы получил, несомненно, такие же, а возможно и лучшие результаты, чем Праусниц.

Но Зейферт выставляет другое возражение, которое мне кажется несколько предвзятым: по его мнению приспосаблиется не бактериофаг, а бактерия. Попробуем припомнить, каким образом производятся, технически, эти опыты повышения устойчивости бактериофага по отношению к разным вредоносным для него агентам.

Берется бактериофаг слабой активности и вводится в эмульсию культуры чувствительного микроба; спустя 24 часа—смесь проводится через фильтрованную свечу, т. е. отсеиваются все те бактерии, которые бы могли оказаться устойчивыми.

Я воздействую каплей этого фильтрата, не содержащего ни одной бактериальной клетки, на свежую культуру чувствительной бактерии; спустя 24 часа—новая фильтрация; таким путем производятся последовательные пассажи для повышения вирулентности бактериофага. Было бы желательно знать, где, в течение этого процесса, возникает возможность приспособления бактерий?

Возражение Зейферта точно такого же свойства, как если бы ктонибудь сказал, что при пассажах патогенных бактерий через чувствительные организмы (например, кроликов), дело идет не об усилении вирулентности микроорганизма, а о приспособлении кролика к умиранию от меньших доз микроба.

Но мы можем привести еще один опыт, показывающий, что бактериофаг обладает способностью адаптироваться даже при полном отсутствии бактериальных клеток.

Приспособление к физическим воздействиям.

Мы, совместно с Сертичем, выделили расу бактериофага, чрезвычайно вирулентного по отношению к некоторым штаммам стрептококка, но чувствительную к температуре в такой мере, что 30-ти минутная экспозиция до 58° разрушала его нацело. Желая повысить его устойчивость к температуре, мы сделали с этим бактериофагом ряд пассажей следующим образом: совершенно юная культура чувствительного стрептококка была заражена одной каплей взвеси

бактериофага; после полного лизиса, культура была профильтрована через свечу; фильтрат, в запаянной пробирке, прогрет в течение 30 ти минут до 59° ; этот прогретый фильтрат служил для производства пассажа, аналогичного предыдущему. Вторым фильтрат подвергся воздействию температуры в $59\frac{1}{2}^{\circ}$. Таким образом, нами было проиграно ряд пассажей, при все возрастающей температуре.

Вначале, приспособление к температуре происходило легко, но, далее, пришлось ограничиться повышением температуры между пассажами на $\frac{1}{4}$ градуса, а затем на $\frac{1}{5}$. После 30-ти пассажей температура, необходимая для разрушения бактериофага, поднялась с 58 -ми до 68° . Более высокой температуры нам не удалось достигнуть. Впрочем, 10° представляют значительное увеличение предельной чувствительности к температуре, и трудно назвать живое существо, приспособляемость которого в этом направлении была бы так резко выражена. Дальнейшее наблюдение за этим бактериофагом дало также интересные результаты: после тридцатого пассажа, если с этим бактериофагом работать без промежуточного прогрева, его теплоустойчивость начинает быстро убывать, и после десятка подобных (т. е. без промежуточного прогрева) пассажей—он возвращается к первоначальной степени своей теплоустойчивости, т. е. погибает при тридцатиминутной экспозиции при 58° .

Мы снова вернулись к пассажам, вводя промежуточное прогревание фильтрата в водяной бане до 68° , после каждого пассажа; в результате сотни подобных операций, теплоустойчивость стала константнее: она понижалась лишь чрезвычайно медленно, даже при исключении промежуточного прогрева: для возвращения терморезистенции к первоначальному уровню—нужно было произвести 50 пассажей без прогрева. После 3-х лет пассажей с прогреванием между каждым из них, производимых непрерывно, устойчивость кажется твердо закрепленной и адаптация становится окончательной. После десятков пассажей без прогрева, теплоустойчивость не варьирует даже в пределах $\frac{1}{5}^{\circ}$.

Приспособляемость к антибактериофагной сыворотке.

Я привожу подробное описание опытов приспособления, адаптивирования бактериофага, проведенных мной совместно с М. Ректиным¹, т. к. эти опыты разъясняют с особенной ясностью общий ход адаптации бактериофажного корпускула.

¹. Статья, резюмирующая эти работы, к моменту выхода данной книги не опубликована.

Общеизвестно, что повторные инъекции взвесей бактериофагных телец вызывают образование в крови животного специфических противотел по отношению к введенной расе бактериофага. Полученная этим путем антибактериофагная сыворотка обладает, между прочим, способностью разрушать или, по крайней мере, нейтрализовать лизирующее действие бактериофажных корпускулов. Праусниц и Фирле еще в 1923 г. показали, что существует возможность постепенного приучения бактериофага переносить безболезненно для себя нейтрализующее действие антисыворотки. Опыты эти были проверены и подтверждены мною. Однако, целый ряд авторов, работавших с фагом, не сумели подтвердить вышеуказанных результатов ¹.

В настоящее время, если факт адаптабельности и принят большинством авторов, то все-же целый ряд искателей не признает наследственной передачи этого приспособления ².

Вопрос казавшийся нам представляющим чрезвычайно большое значение был подвергнут наново подробному и всестороннему изучению. Ранее всего нами был обработан ряд кроликов инъекциями стафифага NH10, выделенного Ректиным. Эта раса оказалась чрезвычайно мощной и поливалентной (из 96 изученных штаммов стафилококка 94 лизировались этим фагом). Несмотря на то, что методика обработки бактериофагом животных была всегда одной и той-же, мы получили сыворотки с чрезвычайно пестрым содержанием противотел. Выбрав среди них наиболее активные и смешав их, мы получили стандартную антисыворотку. Эта антисыворотка нейтрализовала полностью действие бактериофага NH10 после трехчасового пребывания при 37°, в разведении 1:320. Антибактериофажное противотело разрушалось 30-минутным пребыванием при температуре в 100° и выдерживало 30-минутное прогревание при 75°.

Мы начали наши опыты приспособления с пассажирами через жидкие среды, содержащие растущие концентрации противосыворотки. Во время производства этих пассажиров, нами готовилась серия пробирок, содержащих легкую эмульсию чувствительных стафилококков. Затем, к каждой пробирке прибавлялось некоторое ко-

¹ Мы уже дали объяснение этим разногласиям. Каждая раса бактериофагов (и даже каждый корпускул, происходящий от одной и той же взвеси) обладает своеобразной способностью адаптироваться; некоторые полностью лишены свойства приспособления; экспериментатор, случайно напавший на такую расу, выводит заключение, логичное для него, об отсутствии у бактериофага способности адаптироваться.

² Мне кажется, непонятным, какие сомнения может вызывать тот факт, что длительное приспособление живого организма в какомунибудь вредному фактору может передаваться по наследству.

личество сыворотки с расчетом на получение ряда с растущей концентрацией антисыворотки; после чего, к каждой пробирке прибавлялась одна капля бактериофага. Пробирки помещались на 18 часов в термостат, урегулированный на 37°. После инкубации, прозрачная пробирка, содержащая наиболее высокую концентрацию антисыворотки, подвергалась фильтрации. Фильтрат служил для производства новой серии пассажей, с таким расчетом, чтобы минимальная концентрация сыворотки в новой серии пробирок равнялась бы максимальной концентрации той из профильтрованных пробирок, которая давала картину полного лизиса.

Например, первая серия: концентрация противосыворотки: 1:3500, 1:3400, 1:3300, 1:3200, 1:3100. После надлежащего инкубационного срока пробирки 1:3500 и 1:3400 прозрачны, остальные мутны. Через бактериальный фильтр проводится пробирка с концентрацией 1:3400. Я не могу дать полного протокола опытов, т.к. он занимает около 50-ти страниц. Я приведу лишь таблицу операций первого пассажа, целью которого было достигнуть приспособления фага к разведению антисыворотки в 1:600. Как вы увидите из таблиц, понадобилось 4 пассажа через среду, содержащую противосыворотку в этой концентрации, для того, чтобы получить стойкое приспособление бактериофага к ней, несмотря на то, что этот бактериофаг уже обусловил, однажды, лизис стафилококковой эмульсии в присутствии сыворотки, разведенной 1:600 (см. таб. стр. 71).

Раз'яснение к указанной таблице: для контакта № 1 применялась взвесь бактериофага, которую нам удалось путем последовательных 60-ти пассажей приучить переносить концентрацию противосыворотки в разведении 1:600. Четверть куб. сантм. взвеси этого бактериофага смешивалась с 5 куб. сантм. сыворотки, разбавленной бульоном в такой степени, чтобы общая концентрация ее равнялась 1:600; пробирка помещалась в термостат при 37°; после 15-минутного контакта, калиброванной платиновой петлей бралось небольшое количество смеси ($\frac{1}{50}$ куб. сантм.) и вносилось в 10 кб.с. бульонной культуры стафилококка. Пробирка тотчас-же сильно взбалтывалась с целью возможно полного перемешивания ингредиентов и затем, той-же калиброванной петлей после фламбирования, бралось снова $\frac{1}{50}$ куб. сантм. жидкости, тщательно распределявшейся на секторе чашки Петри (диаметром в 10 сантм.) представлявшем $\frac{1}{4}$ поверхности чашки. Такая же операция проделывалась спустя $\frac{1}{2}$ часа, час и три часа. Следовательно, спустя 3 часа все 4 сегмента чашки Петри были засеяны указанной смесью. После засева, чашки помещались в термостат при 37°. Контроль состоял из 0,25 кб. сантм. взвеси бактериофага, разведенной в 5 кб. сантм.

Приспособление фага к разведению противосыворотки в степени 1:600.

Кон- такт №	Обозначен. нега- тивн. колоний	15 мин.	30 мин.	60 мин.	180 мин.	Контроль.
1	ASP1	50	5	0	0	несосчит.
	ASP2/a	301	247	9	0	
	ASP2/b	94	2	0	0	
2	ASP2/c	1	1	0	0	
	ASP2/d	14	0	0	0	
	ASP3/a	несосчит.	несосчит.	190	29	
	ASP3/b	0	0	0	0	0
3	ASP3/c	несосчит.	200	74	60	несосчит.
	ASP3/d	70	1	1	0	
	ASP4/a	0	0	0	0	0
	ASP4/b	280	294	несосчит.	201	несосчит.
4	ASP4/c	100	42	1	1	
	ASP4/d	несосчит.	300	несосчит.	90	

(Цифры указывают на число негативных колоний; „несосчит.“—означает такое количество негативных колоний, которое не поддается подсчету).

стерильного бульона. Одна калиброванная петля этого разведения была введена в эмульсию стафилококка, и немедленно высеяна на сектор чашки Петри, которая ставилась в термостат. После инкубационного срока, от 12 до 18 часов, при 37°, каждый из сегментов оказывался покрытым культурой стафилококка. Культура контрольного сегмента была испещрена таким количеством негативных колоний, что их контуры сливались, делая невозможным подсчет количества пятен. На микробном газоне сегмента, отвечающего 15-ти минутному контакту, можно было бы насчитать 15 пятен; на сегменте же, отвечающем 3-ти минутному контакту лишь 5 пятен, и ни одного пятна на остальных сегментах. Корпускулы фага, давшие начало возникновению 5 негативных колоний на сегмента, отвечающем 30-минутному контакту, следовательно, оказывались наиболее приспособленными; это приспособление не было еще достаточно резко выражено, потому, что ни одно тельце не сумело перенести 60-ти минутного контакта сыворотки, разведенной в 600 раз. Мы сочли необходимым закрепить приспособление к этому разведению ранее, чем перейти к более концентрированным разведениям.

- Четыре негативных колоний фага, а, в, с, d, 30-минутного сектора, были засеяны согласно общей технике работы с фагом ¹. в 10 жуб. сантим. юной бульонной культуры стафилококка. После инкубационного срока в 10—18 часов, содержимое каждой из этих пробирок фильтровалось через свечу Шамберлана L₅. Таким образом мы получили четыре фильтрата а, в, с, d. С каждым из этих фильтратов проводилась прежняя процедура с отбором, наиболее устойчивых к контакту с противосывороткой, негативных колоний. Напоследок мы получили фагов из негативной колонии „в“, приспособление которых было достаточно выражено, т. к. трехчасовой контакт с разведением сыворотки в 1:600 оставлял нетронутым почти все количество корпускулов. Таким образом, мы имели возможность перейти к более высокой концентрации сыворотки. Затем, мы продолжали, по той же методике, дальнейшее приспособление фага к действию противосыворотки, считая адаптацию достигнутой тогда, когда количество негативных колоний, появлявшихся на опытном сегменте (испытывавшем 3-х часовой контакт с противосывороткой) не отличалось сколько нибудь значительно от числа их на контрольном. По проведении 80-ти серийных пассажей мы дошли до такой степени адаптации, при которой большинство телец фага выдерживало концентрацию антисыворотки в разведении 1:15. Этого предела мы не смогли перейти.

Изучение приведенной таблицы вызывает ряд умозаключений. Ранее всего, оказывается, что каждый корпускул фага имеет совершенно своеобразную способность к адаптации. Это, впрочем, составляет одну из основных характеристик бактериофага, к которой я с самого же начала привлекал внимание исследователей. Вторая мысль, вызываемая изучением этой таблицы, мне также кажется не лишеной интереса. Бактериофажное тельце, от которого произошла негативная колония „в“ 3-го контакта, точно так же, как бактериофажные корпускулы, которые дали начало негативной колонии „а“ 4-го контакта, сохранились живыми (в течение предшествующего контакта с противосывороткой), т. к. от них возникла с виду нормальная негативная колония. Но перенос этих негативных колоний в свежую культуру стафилококка, не мог уже обусловить в ней явления бактериофагии. Фильтрат также оказался не содержа-

¹. К поверхности негативной колонии дотронуться тонкой платиновой иглой, избегая, насколько возможно, прикосновения к окружающей среде. Игла погружается в жидкость, которую желательно заразить фагом; кончик ее тщательно растирается против внутренней поверхности пробирки на уровне верхней границы жидкости. Я подсчитал, что при применении подобной методики вводится, в среднем, около 100 корпускулов фага.

шим ни единого (даже ослабленного) бактериофажного корпускула, потому, что контрольные сегменты (ASP3/b и ASP4/a) не содержали ни одной негативной колонии. Этот феномен никогда не был наблюден мною, несмотря на то, что я проводил выделение фагов в чистой культуре в течение двух десятков лет, тогда как в каждой из 80-ти серий пассажей путем „селекционированных пятен“ мы их получали систематически. Я не нахожу другого объяснения, кроме того, что некоторые из бактериофажных корпускулов, после контакта с сывороткой, претерпевают резкое нарушение равновесия внутренних функций, ведущее к гибели тельца.

Привожу еще одно явление, которое также до нынешнего времени не было наблюдено и которое тоже свидетельствует о том, что приспособление к противосыворотке сопровождается изменением ряда свойств бактериофажных корпускулов. Начиная с приспособления к концентрации сыворотки 1:100, обнаружилась тенденция к увеличению диаметра негативной колонии; нарастание это проявилось максимально при разведении сыворотки 1:15.

Изучавшаяся раса фага (NH10) давала негативные колонии размеров, колеблющихся от $\frac{1}{8}$ до $\frac{1}{4}$ миллиметра; к моменту же, когда приспособление достигло разведения сыворотки 1:15, диаметр негативной колонии вариировал от $\frac{1}{2}$ миллиметра до 2 миллиметров, т. е. диаметр негативной колонии увеличился в 8—10 раз, а поверхность — от 60—100 раз, по сравнению с первоначальными размерами. Так как прочие условия образования негативной колонии остались неизменными (раса стафилококка, природа среды), то необходимо признать, что мы находимся перед фактом изменения свойств бактериофажного корпускула.

После контакта с сильными концентрациями противосыворотки мы наблюдаем аггломерацию бактериофажных корпускулов, которая выражается, при распластывании на агаре смеси бактериофага с культурой, образованием негативной колонии, своеобразной морфологии, громадных размеров, с полициклическими краями. Так как эта аггломерация никогда не наблюдалась на контрольных секторах чашки Петри то мы отсюда вывели заключение, что перед нами истинная агглютинация бактериофажных телец¹.

Последние работы Барнета подтверждают правильность наших первоначальных предположений об агглютинации бактериофажных корпускулов в указанных выше условиях.

После 13 мес. хранения при температуре от 1 до 5° Цельсия, адаптированный бактериофаг уже не в состоянии был выдержать

¹ Эти опыты приспособления к антисыворотке проведены Ректиным и мною с ноября 32 г. по май 1933 г. в Иэльском университете.

3-го часового контакта с сывороткой, разведенной 1:15; однако, контакт с сывороткой, разведенной 1:100 не давал никакого уменьшения числа негативных колоний. По всей вероятности, подобно тому, что мы видели в опытах приспособления бактериофагов к температурным воздействиям, для закрепления устойчивости адаптации фага к действию противосыворотки, необходимо провести гораздо большее количество пассажей.

Во всяком случае, мы убеждаемся в том, что новые свойства медленно и прогрессивно приобретаются фагом. Имеется возможность высчитать, что при каждом пассаже мы имеем дело с 28 последовательными генерациями фага; для доведения бактериофага до степени устойчивости, позволяющей ему переносить действие сыворотки разведенной в 15 раз, понадобилось много тысяч генераций.

Но, как я уже неоднократно указывал, способность адаптации бактериофага варьирует в широких пределах от одной расы к другой. Так, например, д-р Булгаков в моей Парижской лаборатории начал наново опыты приспособления к антисыворотке другой, также чрезвычайно активной, расы стафифага. Ему удалось после 22 пассажей получить бактериофага, устойчивого к сыворотке в разведении 1:2 (он пользовался той-же самой антисывороткой, которую мы с Ректиным изготовили для первых наших опытов с адаптацией фага). С другой стороны, Зейферт (Seiffert), получивший идентичные с Праусницем результаты при работе с фагом, присланным ему этим автором, не смог добиться никакой адаптации, работая с другой выделенной им самим, расой бактериофага. Все эти опыты лишь подтверждают, что способность адаптироваться чрезвычайно варьирует от расы к расе фага и, будучи чрезвычайно развитой у некоторых рас бактериофага, может совершенно отсутствовать у других, со всей гаммой промежуточных ступеней между этими двумя крайними степенями.

Завершая этот параграф, мне кажется интересным обратить внимание читателя на то, что фаг нам дает первый бесспорный пример приспособления живого существа к новым условиям среды. Другими словами, бактериофаг дает возможность экспериментально демонстрировать возможность наследственного приспособления к условиям среды, что подкрепляет эволюционную теорию Ламарка.

Мы увидим в будущей главе, что приспособление к среде не является единственной причиной вариации. Бактериофаг позволяет реализовать в царстве бактерий явления скачкообразных мутаций, что представляет второй аспект эволюции. Любопытно, отметить, что бактериофаг, дающий возможность реализовать полностью весь процесс эволюции в условиях эксперимента—вызвал такие ожесто-

ченые прения вокруг вопроса о живой или неживой его природе. Нам кажется, что если изучение электрона, наименьшего возможного количества вещества, приблизило физиков к уяснению сущности материи, то углубленное изучение бактериофага, элементарного существа, поможет бактериологам понять механизм жизни.

4. АВТОНОМНОЕ СУЩЕСТВОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГНОГО КОРПУСКУЛА.

Бактериофагные корпускулы обладают ли автономной индивидуальностью, совершенно независимой от свойств бактерий, за счет которых они размножаются, или свойства этих бактерий оказывают прямое влияние на бактериофага, качества которого являются, таким образом, лишь отражением свойств бактерий? Опыт позволяет легко разрешить, какое из этих двух предположений является правильным.

За время работы в Индо-Китае, а затем, позднее, в Египте, я выделил множество рас бактериофагов, вирулентных по отношению к чумной палочке, из экскрементов крыс, собранных в городах и деревнях, где чума является эндемичной. Большинство из этих рас было вирулентно исключительно для *b. pestis*, некоторые же из них были, одновременно, вирулентны и в отношении других бактериальных видов. Так, например, нами были выделены штаммы фага, обладавшего вирулентностью по отношению к палочке Иэрсена (*Jersin*) и к кишечной палочке, выделенной из речной воды. Мне удалось легко выделить из сточных вод расу бактериофага, вирулентного по отношению к тому же штамму кишечной палочки и, одновременно, к тифозной палочке, и третью расу, вирулентную по отношению к кишечной палочке и палочке Шига. Эти три расы бактериофагов обладали, значит, следующими свойствами:

Бактериофаг 1	Бактериофаг 2	Бактериофаг 3
Кишечн. палочка +	Кишечн палочка +	Кишечн. палочка +
Чумна палочка +	Чумна палочка —	Чумна палочка —
Тифозная палочка —	Тифозная палочка +	Тифозная палочка —
Дизент. палочка —	Дизент палочка —	Дизент. палочка +

Все три бактериофага обладают активностью по отношению к одному и тому же штамму кишечной палочки: я проделал серию в 20 пассажей всех трех бактериофагов через культуры означенного штамма *b. Coli*. Совершенно ясно, что вследствие последовательных разведений — первоначальные бактериофагные корпускулы, содержащиеся в капле фага, прибавленной к культуре *b. Coli* — элиминированы полностью при 8 или 9 пассаже. Начиная с этого пассажа, все корпускулы, во всех трех сериях, могли воспроизводиться лишь за счет кишечной палочки. Если свойства корпускулов

обуславливаются свойствами бактерий, за счет которых они воспроизводятся, то все три бактериофага должны были бы совершенно униформироваться, т. е. экспериментатор должен был бы оказаться перед картиной полной идентичности свойств всех трех фагов; однако, при повторении опыта, спустя 20 пассажей, мы получили следующие результаты:

Бактериофаг 1	Бактериофаг 2	Бактериофаг 3
Кишечн. палочка +	Кишечн. палочка +	Кишечн. палочка +
Чумная палочка +	Чумная палочка —	Чумная палочка —
Тифозная палочка —	Тифозная палочка +	Тифозная палочка —
Дизент. палочка —	Дизент. палочка —	Дизент. палочка +

Таким образом каждый бактериофаг сохранил полностью неизменность своих основных свойств, что доказывает абсолютную их независимость, автономность от свойств культуры, за счет которой бактериофаг размножался. Приобретенная устойчивость бактерий по отношению к бактериофагу является также доказательством автономного существования последнего.

Мы видим далее, что эта устойчивость бактерий, после ряда пересевов (от 100 до 200 обычно) теряется; этих фактов нельзя объяснить иначе, как допуская независимое существование обоих живых начал: бактерий и бактериофага.

Мною, в предшествовавших работах, даны протоколы многочисленных опытов, произведенных как в моей лаборатории, так и самыми различными авторами, при чем все опыты сходятся в утверждении полной автономии бактериофажного корпускула от бактерии, за счет которой он регенерируется. Я позволю себе привести только еще один опыт, уже другого порядка.

Бордэ и Чиука (Bordet et Ciuca) установили, что повторные инъекции бактериофажного фильтрата кролику вызывают появление в крови этого животного: с одной стороны, бактериальных противотел (агглютининов и сенсibiliзатрисс) возникающих в ответ на введение присутствующей в фильтрате растворенной бактериальной субстанции, а с другой стороны—специфических противотел, действие которых направлено только против самого бактериофажного корпускула и заключается в способности тормозить литический акт.

Ашешов (Asheshov), затем, показал, что инъекция кролику очищенных бактериофажных корпускулов, т. е. лизата, освобожденного, особым способом, от продуктов растворения бактериальной субстанции, вызывает появление антитела, специфически нейтрализующего действие фага, при полном отсутствии в сыворотках бактериальных противотел.

Эти опыты доказывают, что бактериофагный корпускул представляет собой автономное начало, а не продукт бактерии, за счет которой он питается и размножается.

Совершенно недавно Барнет (Burnet) показал, что сыворотка кролика, подготовленная инъекциями бактериофага, обладает способностью специфически скучивать, агглютинировать эти корпускулы; им же установлено, что агглютинаты видны в ультрамикроскопе, причем к работе Барнета приложены прекрасные фотомикрографии, иллюстрирующие его опыты.

Из наших исследований, произведенных в сотрудничестве с д-ром Рэктиным (Rakietien) вытекает, что антибактериофагная сыворотка содержит пестрый комплекс противотел:

1) противотела в отношении бактериофажного корпускула, а именно: специфический агглютинин, обнаруженный Барнетом (Burnet) и сенсibilизатрису, которая была нами изучена совместно с Элиава:

2) противотело по отношению к лизину бактериофага, о котором будет идти речь в последующем.

Это противотело специфически нейтрализует лизины бактериофага и, следовательно, тормозит действие корпускулов. Это противотело и обусловило нейтрализацию бактериофага сывороткой Ашешова (Asheshov), где антигеном был ультра-фильтрованный лизат. Бактериофаг вызывает образование целого ряда разнообразных противотел, аналогично тому, как это имеет место при иммунизации животного тотальной культурой бактерии, вырабатывающей экзотоксин (так, например, иммунизация тотальной культурой Лефлеровской палочки даст толчек к выработке как антибактериальных, так и антитоксических противотел).

Мы позволяем себе думать, что приведенные опыты исключают всякую возможность оспаривания факта независимого существования, полной автономии бактериофажного корпускула.

5. ПРОБЛЕМА ПРИРОДЫ БАКТЕРИОФАГА.

Мы приходим к обсуждению вопроса, вокруг которого за последние годы разгорелись чрезвычайно оживленные прения. С самого начала моих изысканий, я констатировал, что общее поведение бактериофага, весь ход нового биологического феномена, не может быть понят иначе, как при условии допущения, что бактериофаг есть независимое от бактериальной клетки и, следовательно, живое существо, истинный паразит бактерии. Мне кажется, что если бы все биологи подчинились принципу, согласно которому „теория

должна суметь объяснить все факты и не быть опровергнута ни одним из них“, то удалось бы избежать многих бесплодных споров. Открытие явления бактериофагии вызвало возрождение дискуссии, начавшейся со времени Пастера и корни которой могут быть найдены в писаниях древних философов. Эта дискуссия возникла по поводу спиртового брожения. Пастер (Pasteur) утверждал, что алкогольная ферментация вызвана жизнедеятельностью дрожжевой клетки, микроскопического существа.

Либих (Liebig) и его школа, воскресив теорию Штала (Stahl) возражают на это, что, в данном случае, дело идет об аутогенном явлении, а дрожжи представляют собой лишь инертный побочный продукт этого процесса; мало по малу, споры, длившиеся много лет, прекратились и правота Пастера стала общепризнанной.

Затем, Пастер приступил к изучению заразных заболеваний и тут он снова должен был выдержать новую дискуссию с теми учеными, которые рассматривали болезнь как аутогенный процесс болезненного разложения жидкостей и тканей организма, микроб же, в их представлении, был лишь производным первичного процесса разложения. Но результаты опытов, произведенных различными лабораториями и в различных странах—подтвердили правоту Пастера, и дискуссия мало по малу затихла.

В 1893 г., Ивановский (Jwanowsky), открывает, что одно из заболеваний табачного листа вызвано невидимым началом, а Бейеринк (Beijerinck) устанавливает, что это начало проходит через диализирующие мембраны и что дело идет о живом существе. Вокруг этих сообщений возникают споры; целый ряд биологов поддерживает мнение, что при заболевании, известном под названием „мозаика табачного листа“, дело идет о аутогенном разложении табачных листов и что „вирус“ представляет собой начало, возникающее в результате разложения ткани.

С этого периода времени множество человеческих заболеваний, равно как и заболеваний животных и растений, классифицировано как болезни, имеющие возбудителями „фильтрующиеся вирусы“; вечные споры возобновлялись по поводу каждого из этих открытий, но особую остроту приобрел спор, возникший в результате открытия бактериофага.

В первоначальной моей работе, опубликованной в 1921 году ¹, я даже не дискутировал вопроса о природе открытого начала, т. к. мне казалось, что было совершенно достаточно обнародовать опыты, с неоспоримостью доказывающие, что причиной данного фено-

¹ Имеется русский перевод этой работы.

мена является корпускул, имеющий массу, обладающий способностью размножаться, автономный по отношению к бактерии, за счет которой он питается; что этот корпускул обладает различной степенью вирулентности, которую возможно в условиях эксперимента повышать или понижать; что ряд рас бактериофага способен атаковать, одновременно, разнообразные бактериальные виды; что бактериофаг обладает такой вариабельностью, которая ведет к невозможности изолировать две абсолютно адекватные расы; что он способен приспособляться (адаптироваться) к условиям внешнего существования; я думал, что было совершенно достаточно привести подобные, подтвержденные экспериментом, доказательства этих основных положений, чтобы исключить дискуссию, т. к. все перечисленные свойства составляют исключительную прерогативу живых существ.

Но оказалось, что я ошибся. Множество ученых продолжало поддерживать ветхую теорию Штала (Stahl), использованную Либихом во время дискуссии с Пастером, которую можно формулировать таким образом: „всякое тело, пришедшее в состояние гниения, чрезвычайно легко передает это состояние другому телу, свободному от разложения“. В применении к бактериофагии, ее можно резюмировать следующим образом: „всякая бактерия, пришедшая в соприкосновение с литическим началом, регенирирует это начало, способное вызвать лизис другой бактерии, еще свободной от разрушающего начала“.

В результате какого процесса? На этот вопрос ни один из возражавших мне авторов не дал ответа, за исключением Бордэ (Bordet), построившего гипотезу наследственного извращения питания („*viciation nutritive héréditaire*“) бактериальной клетки. В свое время, я указал на то, что литический процесс передается стерильным фильтратом и что не может быть речи о наследственности там, где нет предков (между бактериальной клеткой, носителем наследственных свойств и фильтратом — находится непроницаемый барьер в виде фильтрующей свечи). Спразедливость требует отметить, что если нашлось достаточное количество ученых, которые не признали теории живой природы бактериофага, то многочисленны были и сторонники этой теории, как единственно способной объяснить все без единого исключения факты, разросшиеся вокруг явления бактериофагии.

Некоторые из ученых придерживались мнения о невозможности окончательного разрешения этого вопроса при настоящем состоянии наших знаний, в виду нашего неведения относительно того, что есть, в конечном счете, жизнь.

Совершенно несомненно, что при настоящем состоянии наших знаний, природа жизни нам еще не вполне ясна, т. к. нам неизвестно, какова точная физико-химическая конституция материи, дающей начало жизни; но бесспорно и то, что мы умеем узнавать жизненный процесс там, где он имеет место—и этого достаточно для того, чтобы разрешить вопрос о природе трактуемого явления.

Мы начинаем еле-еле познавать, что такое, в сущности своей, электричество, но даже и тогда, когда мы были в абсолютном неведении относительно электронов, физики умели определять наличие электрического тока и измерять его интенсивность; вопрос о том, что есть жизнь—обстоит точно таким же образом. Вся эта дискуссия о природе бактериофажного корпускула ¹ приобретает все более и более исторический характер и все большее и большее количество ученых присоединяется к тому мнению, что мы имеем перед собой живое начало.

6. ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИОФАГА.

Бывает необходимым, в некоторых случаях, иметь возможность установить с безусловной точностью идентичность определенной расы бактериофага, т. е. обладать комплексом признаков, позволяющих „паспортизировать“ фага.

Сертичем и Булгаковым дана соответствующая схема, основывающаяся, главным образом, на изучение свойств негативной колонии (plage), т. к. характер бактериофагии на жидких средах менее постоянен.

Указанные авторы предлагают пользоваться, в целях идентификации, следующими признаками:

1. Диаметром негативных колоний на 1% агаре, с учетом размеров наименьших plages, среднего диаметра наиболее многочисленных пятен и, наконец, размеров наибольших plages vierges.

2. Интенсивность лизиса на самой поверхности, занимаемой негативной колонией, с обозначениями (по Сертичу): L_3 (на уровне plaque—абсолютно обнаженная поверхность агара: края—ровно обрезаны); L_2 (plage, в центре, представляет тот же характер, что и в предыдущем случае, но края не ровны, волнисты: полный лизис в центре, неполный—по краям); L_1 (plage покрыта тонкой непрерыв-

¹ Читатели, которых эта дискуссия могла бы заинтересовать найдут полное изложение ее в работе, напечатанной в 1926 г. „Le Bacteriophage et son comportement“, I том, 525 страниц, в издательстве Masson (Париж) и на английском языке, в издательстве William and Winkins, Baltimore, Maryland.

ной пленкой культуры: следовательно, неполный лизис на всем протяжении негативной колонии).

3. Постоянство литических явлений, т. е. появление или непоявление вторичных колоний на поверхности негативных пятен.

Обозначения (по Сертичу): +++ (отсутствие вторичных колоний, поверхность пятен остается навсегда обнаженной); +++ (появление одиночных колоний не обнаженной поверхности пятен); ++ (многочисленные вторичные колонии); + (слившиеся вторичные колонии).

4. Отсутствие или наличие зоны неполного лизиса вокруг негативных колоний (т. н. „ореола“; в случае наличия зоны отмечается ее ширина.

Эти четыре признака позволяют идентифицировать негативные колонии: два нижеследующих пополняют идентификацию:

5. Определение основной вирулентности (согласно подробно нами описанной методике).

6. Терморезистентность бактериофагных корпускулов.

7. Определение побочных вирулентностей.

Комплекс этих семи признаков позволяет „паспортизировать“ расу фагов.

Привожу, в качестве примера, таблицу, по Сертичу, пяти рас фага, активных в отношении пигментной бактерии, *Chromobacterium violaceum*:

Раса	Характер негативных колоний				Вирулент, в минутах	Теплоустойчив.
	Диаметр в м. м.	Интенсивн. лизиса	Постоян. лизиса	Ореол		
I	1,0—2,0—2,5	12	+++	Отсутств.	240	58°
II	0,05—0,1—0,2	11	+		840	56°
III	1,0—3,0—3,5	12	+++		180	58°
IV	0,1—0,5—0,6	12	++		560	52°
V	0,5	13	++++		300	54°

Мне кажется, что, как с практической, так и с теоретической точки зрения трудно представить себе более простой и точный способ идентификации.

7 КРИТЕРИЙ ЖИЗНИ.

Мы не можем еще дать точного определения состоянию жизни и это потому, что мы не знаем точно закономерностей той игры физиохимических сил, которая придает материи свойства живого существа. Но мы можем, подходя к определенному телу, сказать с уверенностью, живо оно или инертно. На чем мы основываемся для того, чтобы провести подобного рода деление?

На том факте, что живое существо движется? Нет, т. к. с одной стороны можно насчитать существа, которые неподвижны, но бесспорно являются живыми; с другой стороны—звезды наделены самостоятельным движением, но несмотря на это, они не являются живыми.

На том-ли, что живое обладает способностью увеличиваться в размерах? Нет, т. к. кристалл, помещенный в насыщенный гомологический раствор, мало по малу „растет“, несмотря на то, что является не живым.

На способности освобождать энергию? Нет, т. к. ветер, падение воды, мотор—освобождают энергию, но ни один, ни другой, ни третий, не являются живыми.

На способности дышать, т. е. поглощать кислород и освобождать углекислоту? Нет, т. к. в этом смысле, огонь дышет, хотя и не является живым.

На способности к ассимиляции? Нет, ибо огонь превращает в идентичное ему самому пламя самые разнообразные субстанции: нефть, дерево, каменный уголь, различные органические вещества, а огонь есть нечто не живое.

Что же является основным свойством, которым обладает всякое живое существо, и которого лишено все не живое? Это—способность к обмену веществ, метаболизму.

Метаболизм есть основной акт, связанный с жизнью вещества. Нам неведом еще механизм этого акта (т. к. знать его—было бы равносильно познанию самой природы жизни), но мы знаем как он внешне выражается. Основной клеточный метаболизм начинается процессом секреции в окружающую среду растворимых ферментов, имеющих химическую природу и которые обладают способностью расщеплять на их составные части некоторые вещества, именуемые „питательными“, могущие находиться в их непосредственной близости. Между этими простыми составными частями клетка элективно избирает те, которые наиболее подходят к ее составу и ассимилирует их. Следствием этого акта является увеличение комоч-

ков живой субстанции и затем, когда некоторый предел объема достигнут, разделение их на две, подобных друг другу, клетки.

Бактериофагный корпускул обладает ли метаболизмом? В этом заключена вся проблема: если он им обладает, то является живым существом и никакие аргументы не могут поколебать этого вывода, т. к. существо, обладающее основным критерием жизни, есть живое существо.

8. МЕТАБОЛИЗМ БАКТЕРИОФАГНОГО КОРПУСКУЛА.

Первый акт метаболизма заключается в секреции ферментов, обладающих способностью разлагать питательное вещество на его составные части. Элиава и я обрабатывали алкоголем бактериофагные фильтраты, осадок был оставлен в течение от 5 до 6-ти дней в контакте с алкоголем—срок достаточный для разрушения бактериофагного корпускула. Осадок был снова взвешен в физиологическом растворе; некоторое количество этого раствора, прибавленное к бульону, вызывало задержку в росте соответствующего микроба. Кроме того, этот раствор обладал чрезвычайно резко выраженной опсонизирующей силой, как мы увидим в другой главе. К несчастью опыт удавался не со всеми бактериофагами, но только с некоторыми расами. Мы отсюда вывели заключение, что активным началом алкогольного осадка был лизин бактериофага, т. е. растворимый фермент, происходящий из бактериофажного тельца.

В 1925 году Ашешову (Asheshov) удалось получить от кролика сыворотку, нейтрализующую действие бактериофага; в качестве антигена названный автор пользовался лизированными бактериальными культурами, профильтрованными через ультрафильтрующую мембрану, задерживающую корпускулы бактериофага.

Наконец, Сертич (Sertic) в 1929 году произвел опыт, представляющий прямое доказательство сецернирования бактериофагными тельцами растворимых ферментов, лизинов.

Он изолирует, из испражнений, бактериофага, активного в отношении кишечной палочки, и дающего на агаре чрезвычайно своеобразные „негативные колонии“; после восемнадцатичасовой инкубации негативная колония кажется нормальной, с ровно обрезанными краями, диаметром в 2 мм., приблизительно, но затем она окружается ободком, который увеличивается мало по малу и достигает диаметра в несколько сантиметров. Автор тотчас же вывел заключение что этот ободок должен был образоваться под воздействием фермента, лизина, вырабатываемого корпускулами, находящимися в негативной колонии и понемногу диффундирующими в

агар и атакующими бактерии, расположенные на периферии негативной колонии.

В доказательство, им произведен следующий, чрезвычайно остроумный опыт. Сертич распределяет на поверхности чашки Петри 4 капли молодой культуры кишечной палочки, таким образом, чтобы получилось 4 сектора, отделенных один от другого полоской стерильного агара, толщиной в 1 см.; таким образом на поверхности агара вырисовывается крест из стерильного агара, разделяющий 4 засеянных сектора. Он касается верхушки одного из секторов тонкой платиновой иглой, предварительно погруженной в суспензию бактериофага, дающего эти негативные колонии с ободком. После инкубационного срока, на месте, к которому притронулись платиновой иглой, обнаруживается типичная, лишенная следов бактериального роста, негативная колония в 2 мм. диаметром; мало по малу, эта негативная колония окружается ободком, постепенно нарастающим и затрагивающим все 4 сегмента, что служит наилучшим доказательством того, что производящее лизированный ободок начало диффундирует в агар, раз оно проникает через стерильную полоску питательной среды.

Когда ободок завладевает почти всей поверхностью агара, Сертич вырезывает скальпелем полоску стерильного агара, растирает этот агар в ступке с глицерином и оставляет мацерировать в течение суток; затем, он отделяет глицерин путем центрифугирования. Глицериновый экстракт не содержит ни одного бактериофажного тельца, но обладает способностью лизировать кишечную палочку: накапывая на агаровые культуры глицериновый экстракт в растущих разведениях, он убеждается в том, что растворяющее действие экстракта находится в соответствии с его концентрацией и действует до разбавления в 1:128. И, что самое основное, лизирующее действие экстракта не передается последовательными рядами, лизин лишен способности размножения.

Ясность и простота этого эксперимента не позволяют иметь двух мнений. Принцип, разрушающий бактерии в ободке, окружающем негативную колонию, может быть растворимым литическим ферментом, вырабатываемым корпускулами, размножившимися в „негативной колонии“ (*plage vierge*); в дальнейшем эти ферменты диффундируют в агар.

Далее, Сертич продолжал свои опыты в моей лаборатории; ему удалось изолировать ряд рас бактериофагов, которые выделяют различные количества лизина и отделить этот лизин путем ультрафильтрации от бактериофага.

В сотрудничестве с Булгаковым (Boulgakow), Сертич выделил из различных проб сточной воды 50 разнообразных рас бактериофагов, которые все были активны по отношению к кишечной палочке и образовывали избыток лизинов. Изучение этих различных лизинов показало цитированным авторам, что каждый лизин разрушается путем нагревания при определенной температуре и что эта температура отлична от той, которая ведет к разрушению бактериофажного зерна.

На 50 изученных лизинов 42 разрушаются при температуре меньшей, чем 80° , восемь—при температуре высшей. Для этих восьми лизинов температура разрушения более высока, чем температура, при которой теряют активность вырабатывающие их бактериофаги. Например, лизин разрушается при 86° , а бактериофаг, который вызвал его образование, при 76° . В этом случае возможно изолировать лизин от телец бактериофага путем прогревания при 80° .

Совершенно излишне подчеркивать, что растворяющее действие лизинов не воспроизводится непрерывными рядами, последовательными сериями: бактериофажный корпускул действует непрерывными рядами только в силу того, что он размножается за счет бактерий, тогда как лизин есть лишь растворимый фермент, не воспроизводящийся в процессе своего действия и истощающийся по мере разведения.

Как мною уже было упомянуто, бактериофаг воспроизводится лишь за счет живых бактериальных клеток. В противоположность ему лизин растворяет бактериальные клетки, убитые хлороформом. Это обстоятельство позволяет отвести возражение, что лизин есть лишь слишком слабый бактериофаг, лишенный способности воспроизводиться, благодаря своей слабости.

Этими же опытами опровергается другое, могущее быть выставленным, возражение, а именно то, что лизин является производным самой бактерии; 50, полученных авторами, лизинов, происходят от пятидесяти различных бактериофагов. Все исходные фаги воспроизводились за счет одного и того же штамма кишечной палочки; однако, каждый из этих лизинов обладал различной температурой разрушения и эта температура не менялась и в том случае, когда бактериофаг культивировался за счет другого штамма кишечной палочки.

Обращаю еще раз внимание на чрезвычайную вариабильность различных рас бактериофага: каждый из них вызывает образование лизина, имеющего ему одному присущие свойства. Впрочем, количество лизина, вырабатываемого различными бактериофагами, чрезвычайно разнообразно: некоторые вырабатывают его в большом из-

бытке, что обнаруживается макроскопически в том, что негативные колонии окружены ободком большего или меньшего диаметра в зависимости от количества вырабатываемого лизина; другие расы бактериофагов не вырабатывают избытков литического фермента (во всяком случае, фермента, способного экстрагироваться).

Существованием лизина объясняется следующее явление: возьмем расу активного бактериофага в отношении, например, *b. Coli*, но совершенно лишенного активности по отношению к стрептококку; берем совершенно молодую культуру кишечной палочки в бульоне, к которому прибавим одну каплю бульонной же культуры стрептококка; в качестве контроля мы будем иметь вторую пробирку, содержащую ту же смесь. К первой пробирке прибавим бактериофага, активного по отношению к кишечной палочке. Проверая через каждый час, путем высеивания на агар из контрольной пробирки, мы увидим, что стрептококки и кишечная палочка размножаются параллельно. В пробирке же, содержащей фага, кишечная палочка претерпевает лизис и количество ее колоний уменьшается; но одновременно уменьшается и количество колоний стрептококка. Так как это количественное убывание стрептококка наблюдается лишь в пробирке, где происходит бактериофагия кишечной палочки, его можно объяснить только наличием лизина, выделяющегося в среду и действующего разрушающим образом и на стрептококка.

Я, недавно, обнаружил существование бактерий, обладающих высокой чувствительностью по отношению к действию лизинов; некоторые из них в такой мере чувствительны, что разрушаются полностью под воздействием лизина, вырабатываемого любой расой бактериофага ¹.

Наиболее чувствительный из обнаруженных мною штаммов — это аспорогенный штамм *b. Megatherium*. Засеем широкой лентой на поверхности агара на чашке Петри (толщина ленты равна приблизительно 1 см.) бульонную культуру этого микроба; предоставим бульону испариться при температуре термостата (что берет от 5 до 10 минут, в особенности, если чашка Петри предварительно подсушивалась в течении 24 часов в термостате); на поверхности агара у нас окажется налет *b. Megatherium*, распределенный равномерным, тончайшим слоем. Притронемся концом платиновой иглы к культуре кишечной палочки и прикоснемся, затем, к центру ленты роста мегатерия; сделаем то же самое, в другой части этой ленты, со вторичной культурой той же самой кишечной палочки; после инкубации мы получим слой культуры *b. Megatherium* на протяжении всей ленты.

¹ Цитируемый опыт нигде пока не опубликован.

На месте, к которому мы прикоснулись чистой культурой кишечной палочки, не обнаруживается никаких перемен, но там, где мы дотронулись вторичной культурой, мы видим следующую картину: в центре—вторичная культура *B. Coli* в чистом виде, без примеси мегатерия, а вокруг—широкое кольцо оголенного агара.

Мы можем, с другой стороны, убедиться в том, что бактериофаг, сам по себе, не оказывает никакого воздействия на мегатерия и единственное объяснение растворения этого микроба в пределах кольца заключается в том, что лизин, сецернируемый бактериофагными корпускулами, имеющимися во вторичной культуре, диффундирует в агар и вызывает лизис мегатерия. Вторичная культура любого микроба вызывает зональное растворение мегатерия.

B. Megatherium, убитый парами хлороформа, лизируется так же хорошо, как и живая культура. Для проверки этого достаточно произвести засев, как я только что указал; затем поместить чашку Петри в термостат на несколько часов для получения ясно-видимого бактериального слоя. Чашку помещают под колпак, в атмосфере, насыщенной парами хлороформа, на несколько часов, затем прикасаются к поверхности этой полосы, в центральной ее части, вторичной культурой, и после инкубации, получается то же самое явление, что и с живой культурой этого микроба: колония вторичной культуры окружена кольцом, в пределах которого клетки мегатерия нацело растворены.

Мы увидим в следующей главе, что представляет собой бактерия—носительница бактериофага. Чрезвычайная чувствительность этой аспорогенной расы мегатерия делает из него чрезвычайно ценного детектора бактериальных штаммов „носителей бактериофага“. „Ультрачистые“ расы не дают на выросшем слое мегатерия ничего микроскопически видимого (под микроскопом мы имеем смесь клеток мегатерия и засеянного микроба), микробы же—носители фага, дают вторичную колонию и стерильный ободок вокруг нее:

Все описанные опыты согласованно показывают, что бактериофагный корпускул вырабатывает один или несколько лизинов, обладающих свойством растворять бактерии, служащие питательной средой для бактериофага. Отсюда вывод, что бактериофаг обладает собственным обменом веществ, который является критерием его живой природы.

В недавно опубликованной работе, Барнет (Burnet) излагает опыты, доказывающие, что бактериофаги вырабатывают один или несколько растворимых начал, действие которых выражается в блокировании специфической реакции между бактериофагом и бакте-

риофагным противотелом. Это растворимое начало не адсорбируется чувствительными бактериями и отлично от лизинов.

9. ЯВЛЕНИЯ, ВЫТЕКАЮЩИЕ ИЗ ФАКТА СЕЦЕРНИРОВАНИЯ ЛИЗИНА.

Необходимо, в нескольких словах, остановиться на структуре негативных колоний.

Сертич¹. выделив сотню различных рас бактериофага, активных в отношении одного и того же штамма *B. coli*, специально занялся изучением строения *plages*, образованных на агаре этими фагами, после шестидневного пребывания в термостате при 37°. Эти *plages* распадаются на две группы: с ровно очерченными краями и окруженные более или менее широким ободком стертого лизиса; стертый лизис обусловлен избыточной секрецией лизина корпускулами, развившимися в негативной колонии.

Сертичу удалось установить, для обеих указанных групп, на какое расстояние, от краев негативной колонии, фаги проникают в окружающий слой бактериального роста; применявшаяся им техника крайне проста: он прикасался, на различном расстоянии от центра негативной колонии, к слою бактерий и искал наличия в нем корпускулов фага, согласно изложенной выше методике.

Из его работы явствует, что каждая из двух вышеуказанных групп фагов распадается на две подгруппы: первую, где фаги сравнительно далеко проникают в окружающую негативную колонию бактериальный слой, и вторую, где проникновение в слой бактерий фагов—совершенно слабо выражено или отсутствует вовсе.

У автора получилось впечатление, что проникновение фагов на ту или иную глубину бактериального налета находится в прямом соотношении с диаметром негативной колонии; оно, впрочем, понятно: чем шире диаметр негативной колонии, тем большей атакующей способностью должны обладать корпускулы фага.

Но диаметр негативной колонии и ширина литической зоны („литического ореола“) являются независимыми друг от друга переменными величинами.

Привожу таблицу, в которой сведены свойства различных типов негативных колоний:

Расы фагов	Диаметр <i>plage</i>	Расстояние от центра <i>plage</i> в миллиметрах		
		Зона фагов	Граница проникнов. корпускул.	Зона лизисов
FFZ	0,7	8,0	10,0	24,0
XLIXB	0,4	2,0	5,0	14,5
XXIVB	2,2	7,0	19,0	20,5
LBZ	0,3	0	1	12,0
XXIXa	1,8	12,5	13,0	0
LIIIa	0,3	0	1	0

¹. Эти исследования к моменту выхода настоящей книги еще не опубликованы и составляют предмет доклада Парижскому Биологическому Обществу.

Как видно из приведенной таблицы, состав и расположение различных участков „негативной колоний“ очень вариабильны; разумеется, мы приводим наиболее разительные, типичные примеры.

Привожу второе явление, связанное с существованием лизина.

В самом начале моих изысканий, я указал на то, что, под воздействием известных суспензий бактериофага и, в особенности, в тех случаях, когда к бактериальной эмульсии добавляется, сравнительно, большое количество слабого фага, имеет место агглютинация соответствующей бактериальной культуры.

Так как это явление наблюдается и в присутствии убитой бактериальной культуры, взвешенной в физиологическом растворе, я приписал эту агглютинацию не самым тельцам фага, а какому-то продукту их секреции.

Недавно Бордэ и Рено (Bordet et Renaux) подтвердили реальность этого феномена, но приписали его адсорбции бактериофага бактериальными телами.

Сертич, вызвав агглютинацию бактерий ультрафильтрованным фагом, сецернирующим избыток лизина (т. е., с жидкостью, не могущей содержать ни единого бактериофажного тельца), доказал, что моя интерпретация не была ошибочной: агглютинация вызывается не самим фагом, а его лизином.

Ультрафильтрат бактериофага, не сецернирующего лизина в избытке, лишен способности вызывать феномен агглютинации.

10. ЕДИНСТВО БАКТЕРИОФАГА.

С самого же начала, мы могли убедиться в том, что основная характеристика, которая может быть дана бактериофагу—это чрезвычайная его вариабильность. В моей лаборатории изолировано несколько тысяч рас различных бактериофагов, и каждый из них обладал свойствами, позволяющими отличать его от соседних рас.¹⁾

¹ Напомним, что бактериофаг не один обладает значительной вариабильностью. Известно, например, что с точки зрения серологии, каждый штамм *b. Coli* представляет своеобразные свойства и ведет себя, как самостоятельный вид.

Бактериофагный корпускул представляет собой живое существо и образует в классификации живых существ отдельный вид. Из того факта, что каждая раса бактериофага обладает своеобразием свойств, можно ли сделать вывод, что существует столько же видов, сколько и рас?

Разумеется, нет. Было бы совершенно нелогичным желать создать столько видов бактериофага, сколько существует рас. Мы уже удостоверились в том (и убедимся в том еще полнее из следующей главы), что определенная раса бактериофага может претерпевать трансформации, что ее свойства могут в значительной мере видоизменяться; можно ли допустить, что бактериофаг, который приспособляется, претерпевает мутацию,—принадлежит в систематике к одному виду—до мутации и к другому—после мутации? Достаточно только выразить подобную мысль, чтобы продемонстрировать всю ее абсурдность.

Но можно-ли допустить, что существует столько же видов бактериофага, сколько имеется бактериальных видов, подвергающихся его действию; это значит, что имеется: вид атакующий *b. Coli*, вид, разрушающий *b. typhi*, вид разрушающий *b. pestis*? Но мы видим, что множество рас бактериофагов атакуют, в одно и то же время, различные бактериальные виды. Есть расы, которые активны одновременно и против *b. Coli*, *b. typhi*, и против *b. pestis*. Нам кажется несомненным, что все расы бактериофага, атакующие эти различные бактериальные виды, принадлежат к одному и тому же виду бактериофага.

Мы позволяем себе думать, что логика требует допущения рабочей гипотезы, которая согласуется со всеми имеющимися фактами и не опровергается ни одним из них; а такой является гипотеза о существовании одного лишь вида бактериофага, в смысле систематическом. Все варианты обусловлены: или приспособлением к среде, которое легко может быть осуществлено в порядке экспериментальном, или получаются в результате приспособления к симбиозу, о чем будет говориться в следующей главе.

В 1921 г. Элиава и я показали, что все бактериофаги, независимо от того, за счет какой бактерии они размножаются, представляют собой единый антиген. Все они фиксируют комплемент после сенсibilизации сывороткой, изготовленной путем повторных инъекций кролику одного и того же бактериофага.

Грация (*Gratia*), а затем Флю (*Flu*) подвергли эти опыты иной интерпретации, не признавая в них за бактериофагом значения антигена, т. к. если взять автолизат стафилококка, не содержащего, следовательно, бактериофага, фиксация комплемента все же имеет место.

По их мнению, у всех бактерий, к какому бы виду они ни принадлежали, имеется общий антиген.

Факт наличия общей антигенной функции у всех бактерий кажется довольно странным, если припомнить, что реакция фиксации комплемента, как это установлено всеми иммунологами, обладает узкой специфичностью.

Ошибочность заключения наших коллег объясняется тем, что они, по всей вероятности, оперировали со штаммом стафилококка, сожительствовавшего с бактериофагом. Это объяснение мне кажется тем более правдоподобным, что при проверке с помощью *b. Megatherium*, в качестве детектора, я обнаружил, что значительное количество штаммов стафилококка является, как раз, носителями бактериофага. Нужно думать, что в опытах Грациа (Gratia) и Флю (Flu), общим антигеном, как и в наших опытах, был бактериофаг.

11. ОБЩИЕ ВЫВОДЫ ОТНОСИТЕЛЬНО ЖИВОЙ ПРИРОДЫ БАКТЕРИОФАГА.

Бактериофаг принадлежит к группе существ, известных под именем „фильтрующихся вирусов“. Все эти существа представляют ряд общих свойств: все они облигатные паразиты, ни один из них не может быть культивирован вне организма-хозяина; все представляют аналогичные диаметры: между 10—50 миллимикронами. ¹.

Одни из них являются паразитами растительных клеток, как например, вирусы разнообразных мозаик; другие представляют собой паразитов животных клеток насекомых, как, например, при полиэдрическом заболевании гусениц различных пород; млекопитающих, как например, при ящуре и, человека, например, при оспе. Установление живой природы бактериофага подтверждает живую природу всех фильтрующихся вирусов, что, впрочем, всегда казалось большинству исследователей бесспорным. ².

¹) С точки зрения патологии существует еще другое фундаментальное различие между фильтрующимися вирусами и бактериями. Первые являются клеточными паразитами, способными размножаться внутри клеток; вторые являются паразитами гуморальными и размножаются в жидкостях организма. Некоторые бактерии могут быть обнаруживаемы в лейкоцитах, но их проникновение в лейкоциты пассивно и является следствием фагоцитоза.

²) То, что объясняется обычно термином „фильтрующиеся вирусы“, безусловно, не представляет собой гомогенной группы. Между ними, например, находятся бактерии незначительных размеров, как например, *Asterococcus mycoides*, возбудитель перипнеймонии рогатого скота; другие, как например, возбудитель скарлатины, принадлежат по всей вероятности, к протобактериям, т. е. фильтрующимся формам стрептококка; наконец, этим термином объединяются и протобы, которые являются все ультра-фильтрующимися, т. е. проходят через коллоидные мембраны порозностью от 10 до 50 миллимикронов.

Я предложил в качестве рядового названия для этих существ наименование: *Protobios*. Бактериофаг обозначается видовым наименованием „*Protobios bacteriophagus*“.

Как сами размеры этих мельчайших существ заставляют это предполагать, протобы имеют неклеточное строение, в гистологическом значении этого слова, т. е. не состоят из цитоплазмы и ядра: они лишь конгломерат протоплазматических мицелл. Но существованием живых протоплазматических мицелл доказывается, что клетки не являются наименьшей живой единицей; мы вынуждены расширить рамки жизни и допустить, что клеточная организация не есть обязательное условие возникновения жизни. К тому же, для естествоиспытателя, признающего правильной теорию эволюции, клеточная теория возникновения жизни представляет непреодолимое препятствие к объяснению происхождения жизни на земле. Клетка является уже чрезвычайно усложненным организмом и нет возможности допустить появления на земле первого клеточного организма в результате одной только игры физико-химических реакций. Наоборот, является вполне допустимой концепция, что, в результате физико-химического взаимодействия, сформировалась мицелла, простой агрегат нескольких сот молекул и что, впоследствии, эта мицелла приобрела способность ассимиляции.

В работе, опубликованной в 1924 году, я высказал гипотезу относительно того, что первичным живым началом должна была явиться аутотрофная мицелла, зародившаяся в недрах серных источников: мне даже удалось в одном из подобных источников обнаружить протобактериальные, фильтрующиеся формы серобактерий.

С другой стороны мною отмечено, в одном из предшествующих параграфов, что бактерии могут быть рассматриваемы, как плазмодии, состоящие из агрегатов протобактерий, т. к. бактерии могут, при некоторых обстоятельствах, служить источником возникновения независимых, свободных фильтрующихся форм. При допущении этой гипотезы, опирающейся на ряд фактов, процесс эволюции упрощается и может получиться следующая схема развития, в которой протобы, одномицеллярные существа, представляют основу классификации.

Протобы не принадлежат ни к растительному ни к животному царству.

Одномицеллярные существа.

(протобы).

Плюримицеллярные существа
(бактерии).

Одноклеточные существа
(протофиты).

Многоклеточные существа
(растительный ряд).

Плюримицеллярные существа
(спирохеты).

Одноклеточные существа
(протозои).

Многоклеточные существа
(животный ряд).

Я повторяю, что сказанное в этом последнем параграфе представляет собою лишь гипотетические воззрения; но эти гипотезы опираются на ряд экспериментально проверенных фактов, придающих им большее правдоподобие, чем его имеется у главенствующих ныне теорий.

В конечном счете, наука имеет целью разрешение двух основных проблем: природы материи и природы жизни. В течении последних тридцати лет представители физических дисциплин чрезвычайно далеко продвинулись в изучении природы материи.

Но припомним, что они дошли до этих блестящих результатов не при изучении вещества в его осязательной форме; только с того момента, как физики принялись за изучение бесконечно малых химических единиц, с того момента, когда они приступили к изучению лежащего ниже предела видимости электрона, начал брезжить свет. Совершенно несомненно, что не при изучении видимых сложных организмов биологи смогут надеяться разрешить свою основную проблему, т. к. тут экспериментатор находится в присутствии такого количества факторов, что их число и сложность становятся непреодолимым препятствием на пути определения неизвестного. Лишь, работая над бесконечно малыми единицами, над протобами, которые представляют жизнь в ее наиболее простой форме, мы сможем прийти к познанию сущности жизненного процесса. Читателю, быть может, покажется смелой надежда достигнуть точного знания, избирая объектом изучения существа невидимые. Но зрение есть как раз то из органов чувств, которое наичаще вводило человека в заблуждение. Благодаря чувству зрения возникали легенды, источники суеверий и мистических воззрений, которые наукой разрушаются мало по малу и с таким трудом. То, что ведет нас к истине, это—изучение взаимоотношений, а для производства этой работы прямые зрительные ощущения являются бесполезными. Бактериофаг не может быть видим, но мы можем изучать его поведение, и уже то, что мы знаем о нем сегодня, способно повести нас к пересозданию бактериологии, иммунологии, эпидемиологии и терапии.

Г Л А В А III.

Симбиоз бактерия-бактериофаг.

1. СИМБИОЗ, КАК ФАКТОР МУТАЦИИ.

Я позволю себе указать, вкратце, в виде вступления к этой главе, на несколько общих моментов, касающихся явлений симбиоза в природе и его значения, как фактора мутаций, т. е. того влияния, которое феномен симбиоза может оказать на возникновение изменений в свойствах живых существ, находящихся в состоянии симбиотического сожительства.

Первый пример симбиоза дан Шейнденером (Scheindener), который, в 1870 году, показал, что лишайники являются не однородными существами, но что каждый из них состоит из двух живых существ, водоросли и грибка, тесно сожителями друг с другом.

Франк (Frank), в 1885 году, обнаруживает, что симбиотическое состояние—чрезвычайно частое природное явление и что даже иные высоко-дифференцированные растения живут, обычно, в тесном сожительстве с грибами, которым он дал название *Mycorrhizae*; эти грибки окружают корни растения—хозяина, и даже проникают в них.

В 1900 году (и в последующие годы), Ноэль Бернар (Noël Bernard), в ряде блестящих исследований, доказал, что в симбиозе—один из соучастников должен быть рассматриваем как хозяин, а другой, как истинный паразит. Он обнаружил, что для целого ряда видов орхидей прорастание семян возможно лишь в том случае, если на растении паразитирует грибок.

В симбиозе орхидея—грибок три возможности могут представиться: 1) вирулентность грибка превосходит защитную способность семян—в таком случае, проросшее растение наводняется мицелием грибка и гибнет; 2) защитная способность семян доминирует над вирулентностью грибка—в этом случае грибок подвергается разрушению, перевариванию эвзимами, вырабатываемыми клет-

жами семян; но и семя, неспособное прорасти без сожительства с грибом, гибнет в дальнейшем; 3) вирулентность грибка и сопротивляемость растений уравниваются; оба существа выживают, приспособляются к совместной жизни, возникает симбиоз и семя прорастает.

Как видно из изложенного, симбиоз, в действительности, является частным случаем паразитизма, при котором вирулентность одного и устойчивость другого живого существа—уравниваются.

Я считаю необходимым отметить, что в конечном счете, над всем этим процессом доминирует концепт ассимиляция—основной биологический феномен, к которому могут быть сводимы все, без исключения, биологические явления. Совершенно бесспорно, что согласно общепринятому определению, вирулентность—есть способность паразита размножаться *in vivo*. Но попробуем анализировать дальше: чтобы размножаться *in vivo*—паразит должен, неизбежно, ассимилировать; а что ему предоставлено ассимилировать в организме? Субстанцию хозяина. Но, чтобы ассимилировать субстанцию хозяина, паразит должен вырабатывать ферменты, способные разрушать эту живую субстанцию, т. к. лишь в результате расщепления сложной живой частицы могут получиться простые производные, ассимиляция которых доступна для паразита; а ассимиляция—есть первый акт процесса размножения.

В последнем счете, вирулентностью является способность паразита (бактерии, грибка или простейшего) секреть особые ферменты, способные расщеплять живую ткань (или ткани) данного хозяина.

Всякий микроорганизм, способный выделять подобные ферменты—вирулентен для хозяина, субстанция которого может быть им расщепляема, если у него эта способность отсутствует—он авирулентен. Это—явление общего порядка.

Что же касается устойчивости в отношении инфекции (во всяком случае, в растительном царстве, как это доказал Ноэль Бернар)—то ее можно определить, как способность хозяина вырабатывать один или несколько ферментов, способных переваривать паразитическую клетку.

Я позволил себе остановиться на определении этих понятий (раскрытых мною в других работах), т. к. из дальнейшего изложения будет видно, что вирулентность бактерии может вариировать также, как могут вариировать ее ферментативные функции; и, в конце концов, сама вирулентность может быть сведена к ферментативной функции.

Вернемся к симбиозам. За последние тридцать лет, фактов симбиоза, известных науке как в царстве животных, так и в растительном мире, накопилось столько, что понадобились специальные об'емистые труды для их изучения. Симбиоз не является случайным, необычайным, изолированным явлением, но, наоборот, чрезвычайно распространен в природе.

В этом явлении—самым примечательным нам кажется не самый факт сожительства двух живых существ, а те резкие перемены, которые возникают в свойствах двух живых особей, вступающих в симбиотическую связь.

Поясню изложенное несколькими примерами.

Ноэль Бернар, из своих опытов относительно прорастания орхидей, вывел заключение, что образование растением клубеньков—есть вариационный признак, связанный с симбиотическим состоянием. Он сумел доказать это на растении из семейства *Mercurialis*, семя которого может прорасти или в асептических условиях, или под воздействием симбиоза с грибом.

Оказывается, что, в первом случае—получается растение, известное под наименованием *Mercurialis annua*, однолетнее и без клубеньков, тогда как во втором случае—получается *Mercurialis perennis*, многолетнее и снабженное клубеньками.

В настоящее время, известно много примеров однолетних растений без клубеньков и многолетних с клубеньками, в зависимости от того, растет ли данный вид в „беспримесном“ или „симбиотическом“ состоянии; в обоих случаях, растения были получаемы экспериментальным путем, исходя из одной и той-же порции семян.

Отсюда видно, какое влияние может оказать симбиоз на появление скачкообразных мутаций. Но феномен изменчивости под влиянием симбиозов не останавливается у этого порога.

Я упоминал о лишайниках, образующихся в результате симбиоза водоросли и грибка. Известны многие виды лишайников; каждый вид образовался в результате стойкого симбиоза водоросли точно-определенного вида, и грибка, также постоянного вида.

Но Моро (Moreau) доказал, что лишайники становятся, иногда жертвой паразитизма со стороны водоросли, принадлежащей к иному виду; обычно, в таком случае, на вторжение реагирует грибок и разрушает пришельца, пытающегося присоединиться к симбиозу.

Однако, иногда, пришелец замещает собой прежнего симбионта—водоросль и в результате—появляется вариант лишайника, в котором свойства грибка скачкообразно изменяются, в целях приспособления к новым условиям равновесия сил в симбиозе.

Мы указали выше на то, благодаря какому механизму происходит прорастание семян орхидей. Каждый вид орхидей живет в симбиозе с грибом точно-определенного вида. Экспериментально удалось добиться субституции, подмены одного вида грибка другим, т. е. добиться прорастания семян орхидеи с грибом, с которым симбиоз ей не свойствен; в этом случае, свойства новой орхидеи коренным образом меняются и мы присутствуем при образовании нового ботанического вида.

Как видно из изложенного, в результате обычного симбиоза наступает первичное изменение свойств и затем может наступить новое, вторичное, изменение свойств в результате замены одного симбионта другим.

Я закончу настоящее краткое изложение общих последствий жизни в симбиозе—двумя примерами симбиозов между растением и фильтрующимся вирусом, симбиозов, во всем подобных тому, что мы наблюдаем в сожительстве между бактерией и бактериофагом.

Фильтрующийся вирус из группы т. н. „мозаики табачного листа“ вызывает у *Nicotiana* (табак) заболевание, известное под названием „ring spot“. Этот вирус вызывает у молодого табачного растения заболевание, с совершенно определенным течением, длящееся от 25 до 30 дней; после выздоровления нет никакой возможности констатировать какую либо разницу между переболевшим и никогда не бывшим больным растением.

Однако, выздоровевшее растение остается неопределенно долгое время „носителем“ вируса, и новые растения, возникшие в результате последовательных рассад от переболевшего—также являются „носителями“.

Достаточно протереть лист здорового растения соком листа „носителя“, чтобы вызвать заболевание.

Что же касается „носителей“, то они пользуются приобретенным иммунитетом и не могут быть заражены заново. Добавим, что их соком можно вызвать у растений других пород (напр. у *Phaseolus vulgaris*) заболевание уже не излечимое, а смертельное (Price).

Второй пример. Все клубни картофеля, собранного в Америке (по всей вероятности, это должно иметь место и в других частях света), являются носителями вируса мозаики, который не вызывает никаких болезненных явлений в них и обнаруживается только инокуляцией сока этих клубней другому пасленовому растению, сладкому перцу; сладкий перец служит „детектором“ этого вируса и заболевает всегда тяжело, а иногда и смертельно.

Но вот еще более любопытный факт, открытый недавно Джонсоном (Johnson); оказывается, что рассады табака, зараженные со-

ком картофельных клубней, заболевают—„ring spot“, т. е. той болезнью, о которой мы говорили вначале.

На это возможно возразить, что, быть может, нормальный сок картофельного клубня вызывает взрыв заболевания у детекторов или, иными словами, что вирус вырабатывается в картофельном клубне, также, как, по мнению некоторых авторов, бактериофаг является продуктом метаболизма бактерии. Но вот наблюдение, отвечающее на это возражение: известно, что (исключением являются лишь бобовые растения) болезнетворные вирусы щадят растительные семена. Клубни картофеля, выращенные из семян, не содержат вируса, но можно заразить молодое растение соком клубня, происходящего не от семян, а от клубней же, и, с этого момента, вирус передается от растения к растению обычным способом разведения картофеля, т. е. посадкой клубней.

Я считал необходимым напомнить вкратце об этих фактах, возможно, известных не всем врачам для того, чтобы показать, в какой степени симбиоз распространен в природе, а также указать на возникающие, в процессе симбиоза, реактивные взаимодействия, в результате которых происходят глубокие изменения свойств симбионтов, ведущие к образованию т. н. „мутантов“.

Припомним заявление русского ботаника Еленкина: „Концепция прочного соотношения сил в симбиозе должна быть заменена концепцией неустойчивого равновесия. Два ассоциированных организма реагируют различно на условия внешней среды и на их изменения. Эти последние неодинаково благоприятны для обоих симбионтов; в зависимости от обстоятельств—или один или другой из них будет доминировать. Эти изменения должны остаться в пределах, позволяющих существовать обоим организмам“.

Все только-что упомянутые модальности сожительства мы обнаружим в симбиозе бактерия-бактериофаг.

Некоторые бактериологи, недостаточно знакомые с общей биологией, изумлялись тому, что я мог приводить факт симбиоза для объяснения общих фактов, характеризующих поведение бактериофага и паразитируемых им бактерий, и предполагали, что я изобретаю специальную теорию *pour les besoins de la cause*. Тогда как, в действительности, симбиоз бактерия-бактериофаг есть лишь частный случай общебиологического и прекрасно изученного ботаниками явления:

2. СИМБИОЗ БАКТЕРИЯ-БАКТЕРИОФАГ.

• Уже с 1920 г., я отметил, что некоторые бактерии способны оказывать сопротивление действию бактериофага и что, в результате этого сопротивления—бактерии претерпевают часто глубокие изменения. Я убедился также и в том, что бактерии, которые устояли против острого инфекционного заболевания, каким для них является бактериофагия—продолжают быть хроническими носителями вируса, что приводит к образованию истинного симбиоза, во всем подобного тому, что мы видим у лишайников (я даже прибегаю к термину: *micro-lichen*).

Мы увидим далее, что, когда в симбиозе бактерия-бактериофаг взаимные силы симбионтов вполне уравновешены—присутствие бактериофага может быть обнаружено лишь при помощи соответствующих „детекторов“, как это имеет место с клубнями картофеля, носителями вируса *ring spot*.

Бактериофаги чрезвычайно распространены в природе: в кишечнике людей и всех животных легко обнаружить бактериофагов, действующих на *b. Coli* и на остальных микробов кишечной флоры; в периоде выздоровления от инфекционной болезни—в кишечнике больного обнаруживается бактериофаг, активный по отношению к болезнетворному микробу, виновнику инфекции.

И люди, и животные—рассеивают бактериофагов во внешней среде, т. ч. эти последние находятся в большом количестве в сточных водах, в реках и в самой почве. Поэтому, ничего нет удивительного в том факте, что в природе можно встретить много зараженных бактериальных штаммов, носителей бактериофага.

Байль (Bail) сообщил мне, что он обнаружил в своем музее бактериальных культур три штамма палочки Флекснера, содержащих бактериофаг; присланные мне Байлем культуры были сравнены с экспериментально полученным мной симбиозом палочки Флекснера + бактериофаг, и я смог убедиться в том, что свойства естественно и искусственно полученных симбионтов совпадали; и в одном, и в другом случае,—дело шло об истинной хронической инфекции бактериальной клетки, процесс возникновения которой, в своей основе, идентичен, независимо от того, вызван ли он, искусственно, в пробирке—или спонтанно организовался в кишечнике больного.

Так как бактерии и бактериофаги существовали в ежедневном контакте в течении сотен миллионов лет, то должно казаться достоянием удивления не то, что существуют штаммы бактерий—носи-

телей бактериофага, а то, что не все бактерии являются его носителями.

Мне удалось показать, что три основные модальности, регулирующие состояние симбиоза вообще, могут быть обнаружены и в симбиозе бактерия-бактериофаг: 1) бактериальная культура может подвергнуться полному и окончательному разрушению, если вирулентность бактериофага возрастает; 2) бактериофаг может быть уничтожен, если растет сопротивляемость бактерии; 3) симбиоз продолжает длиться столь долго, пока вирулентность и сопротивляемость находятся в состоянии равновесия.

Во-втором из перечисленных случаев (нарушение симбиотического равновесия за счет повышения сопротивляемости бактерии и, как следствие, разрушение бактериофага)—результатом будет появление „ультра-чистой“ бактериальной культуры (*race ultrapur*).

Не следует упускать из виду, что подобное нарушение равновесия не является специфическим свойством симбиоза бактерия-бактериофаг; оно описано у лишайников, несмотря на то, что симбиоз водоросль-грибок чрезвычайно давнего происхождения, т. к. эти растения являются одним из первых, появившихся на земле.

Впрочем, возможно, что для симбиозов бактерия-бактериофаг должны существовать другие возможности нарушения симбиотического равновесия; я, в виду того, что прямое доказательство еще не может быть мною представлено, не буду останавливаться на этом вопросе; достаточно будет лишь указать, что процесс расщепления симбиоза мог-бы иметь место в организме некоторых моллюсков, а также и амёб F. d. Heréle, Malone et Lahiri).

После моих первых сообщений, указывающих на изменение свойств бактериальных культур, под влиянием фагоносительства (в частности, на потерю агглютинабельности, изменение биохимических свойств, модификацию вирулентности)—множество авторов занялось изучением свойств этих „устойчивых“ или „вторичных“ культур; мною самим опубликованы результаты различных работ по этому вопросу, в частности, в отношении холерного вибриона. Я их не буду приводить здесь, по двум основаниям: во-первых, потому, что понадобилось бы несколько сот страниц для перечисления всех добытых результатов; во-вторых, потому, что все они могут быть резюмированы в одной формуле: под действием фага, бактерии видоизменяются, и эти модификации могут коснуться любого из их свойств: морфологических, культуральных или биохимических.

Но подобное констатирование не может привести нас к точно определенным выводам, т. к. оно представляет собой лишь только

регистрацию тех или иных изменений, возникающих в культурах, паразитируемых бактериофагом, но не разъясняет самой сущности явления образования симбиоза, его возникновения и его дальнейшей судьбы, его действительной природы и биологического значения.

Следует признать, в принципе, что единственным логическим путем, в поисках ответа на эти вопросы, будет: нахождение „ультра-чистой“ бактериальной культуры (т. е. культуры, свободной от носительства фага), экспериментальное образование симбиоза под воздействием на эту культуру селекционированного бактериофага, наблюдение за этим симбиозом в течении значительного отрезка времени и изучение свойства возникшего „комплексного существа“ в различные моменты этого длительного периода обсервации. Подобная задача, разумеется, отнимает много времени: я посвятил ей четыре года (с 1929 по 1933 г.) при сотрудничестве Ruth Koster Becroft и д-ра Tony Rakietien.

3. МЕТОДИКА ИСКУССТВЕННОГО ПОЛУЧЕНИЯ ВАРИАНТОВ (МУТАНТОВ).

Многочисленными предварительными опытами была выработана техника, давшая, в наших руках, наилучшие результаты.

Первая задача заключается в выборе бактериального штамма, родоначальника варианта, носителя бактериофага. Любой бактериальный штамм даст мутантов под влиянием воздействия бактериофага. Даже и тот бактериальный штамм, который уже является носителем, в естественных условиях, бактериофага, даст вторичную мутацию под воздействием другого бактериофага; но, для систематического изучения интересующего нас процесса, мы должны выбрать „ультра-чистый“ бактериальный штамм (и удостовериться в этом многочисленными опытами с различными „детекторами“ бактериофага), т. к. уравнение с двумя неизвестными легче разрешимо, чем уравнение с тремя неизвестными.

Что-же касается бактериофага, то я уже давно констатировал, что степень вариаций бактерий, носителей фага, находится в прямом соотношении с активностью, вирулентностью взятого в опыт фага.

Под влиянием слабого бактериофага, исходный бактериальный штамм превращается в мало от него отличающийся вариант; полученные модификации свойств неустойчивы и, часто, преходящи.

Чем бактериофаг активнее, тем резче выражены модификации и тем более выявлена тенденция к сохранению вновь приобретенных свойств.

Но, даже при очень активном бактериофаге—условия образования вторичных культур, родоначальников мутантов, не безразличны для окончательного результата. Так, например, бактериальная культура может быть растворена, под влиянием соответствующего активного фага, и при 41° — 42° ; но в этих условиях наблюдается быстрое образование обильной вторичной культуры.

Однако, подобная методика работы, в смысле искусственного образования вариантов, даст нам неудовлетворительные результаты: при высеве на агар получаются колонии, ничем не отличающиеся от исходного штамма.

Мы рекомендуем следующую методику:

Ряд пробирок (не менее двадцати) с 10 к. с. питательного бульона ($\text{РН}=7,6$ — $7,8$) заражается минимальным количеством (одной нормальной платиновой петлей) молодой бактериальной культуры того штамма, от которого имеется в виду получение мутантов.

К каждой пробирке прибавляется капля возможно активного бактериофага. Пробирки не помещаются в термостат, а оставляются при температуре лабораторной комнаты, т. е. от 17° до 20° . Если взятый в опыт бактериофаг достаточно активен, часть пробирок останется абсолютно прозрачной, другая, меньшая часть—с течением времени даст помутнение. Все эти пробирки будут оставлены при комнатной температуре в течении от 15 до 20 дней. К этому времени из пробирок, где возникает вторичная культура—отбираются представляющие наиболее нежный рост. Чем нежнее рост—тем резче вариации свойств у полученных мутантов. Из одной из подобных пробирок—берется платиновым ушком 1 капля, которая затем втирается согнутой под прямым углом стеклянной палочкой в поверхность агара, разлитого на чашке Петри; затем, той-же палочкой производится втирание во вторую и третью чашки Петри.

Желательно изготовление, указанным выше способом, не менее 12 серий по 3 чашки Петри.

Из этой дюжины серий—шесть будут поставлены в термостат при 37° , а остальные шесть—сохранены в условиях комнатной температуры.

Ежедневно, в течении пятнадцати дней, все эти чашки Петри должны подвергаться внимательному осмотру.

Условия возникновения этих „вторичных культур“ зависят от свойства бактериального штамма, а не от свойств бактериофага, вызвавшего лизис: некоторые бактериальные штаммы часто дают фильтрующиеся формы при воздействии на них различных бактериофагов, тогда как с другими штаммами одного и того же бакте-

риального вида описываемое явление наблюдается лишь крайне редко.

Способность образовывать с большей или меньшей легкостью протобактерии, по нашему мнению, обуславливается свойствами присущими тому или иному бактериальному штамму.

4. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ИЗУЧЕННЫХ ВАРИАНТОВ.

Я избрал, в качестве исходного штамма для систематического изучения возникающих под воздействием бактериофага мутантов, культуру *Salmonellae enteritidis*, известную под наименованием палочки Данича (Danysz). Мной был выбран именно этот бактериальный вид, т. к. работая с ним, можно проследить за изменчивостью чрезвычайно важного, для патогенного микроорганизма, свойства: вирулентности, т. к. этот микроб способен в условиях эксперимента вызывать заболевание, аналогичное возникающему в естественных условиях.

Вирулентность *Salmonellae enteritidis* в отношении мыши является чрезвычайно константным для этого микроорганизма свойством: в начале наших опытов $1/100$ к. с. восемнадцатичасовой бульонной культуры, при введении per os, на кусочке хлеба, убивала регулярно мышь между 7 и 12 днем; проверенная спустя четыре года—эта минимальная смертельная доза оставалась без изменений.

Вначале-же мы убедились в том, что наш исходный штамм был свободен от бактериофага. Подобная проверка многократно возобновлялась за четыре года изысканий; все, без исключения, проведенные опыты согласно свидетельствовали о том, что избранный штамм был „ультра-чистым“ (Souche ultrapure).

Варианты, которые составляют предмет настоящего исследования, были получены в декабре 1929 г. следующим образом; десять пробирок с бульоном (РН=7,6) заражаются одной петлей восемнадцатичасовой бульонной культуры *Salmonellae enteritidis*, которую я, в дальнейшем, буду обозначать под „исходная Salmonella“ (*Salmon. origine*). Тотчас-же после заражения, к каждой пробирке прибавлялась одна нормальная капля очень активного тифозного бактериофага. Пробирки оставались при комнатной температуре в течении 20 дней; к концу этого срока четыре пробирки оказались совершенно прозрачными, шесть-же помутнели, в результате образования вторичного роста, при чем один из них представлял лишь нежную опалесценцию. Из этой последней пробирки было засеяно 6 серий чашек Петри, по 3 чашки в каждой, и оставлено при комнатной температуре.

На поверхности агара этих чашек появились, вначале, нормальные колонии, т. е. колонии, морфологически подобные колониям исходной культуры (Salm. orig.), а затем—колонии атипичные: одни чрезвычайно мелкие, другие—слизистые и третьи—прозрачные, как капельки росы. Семь из этих колоний были отвиты и легли в основу вариантов II, III, IV, V, VI, VII, VIII. Вариант I происходит из вторичной культуры, возникшей в фильтрате, пропущенном через бактериоудерживающую свечу; эта вторичная культура, дававшая легчайшую муть, появившуюся на десятый день после фильтрации, была перевита на агар и дала небольшие колонии, все одинакового типа; одна из них, пересеянная на пробирку с косым агаром, стала родоначальницей мутанта № 1.

5. ПОСЛЕДУЮЩИЕ ВИДОИЗМЕНЕНИЯ ВАРИАНТОВ.

Все эти варианты были пересеиваемы на агаре, ежедневно, в течении 200 дней; затем, в течении двух лет, они перевивались еженедельно, и, наконец, после этого срока, подвергались иррегулярным перевивкам.

За время изучения этих субкультур мы убедились в том, что варианты (за исключением варианта 1) время от времени, давали колонии, морфологически отличающиеся от первоначального типа. Эти субварианты не были сохранены нами, в виду материальной невозможности изучить их все, принимая во внимание огромное количество опытов, которые необходимо было проводить с каждым из вариантов. Количество этих субвариантов, бывшее, сравнительно, большим, в начале поставленного опыта, стало, в дальнейшем, постепенно уменьшаться, что указывает на тенденцию мутантов к стабилизации.

Однако, даже после нескольких сот. пересевов, наблюдались случаи появления ненормальных (т. е. отличающиеся от исходного типа) колоний мутантов. Из всех этих субвариантов мы сохранили лишь один, происходивший от варианта III; колонии исходного варианта III были слизистыми, типа палочки Флидлендера; в течении 200 пересевов все колонии сохраняли этот тип, но, на 201 пересеве, скачкообразно, появились лишенные слизистой консистенции, прозрачные колонии; одна из этих последних была пересеяна и легла в основу варианта III, первоначальный же тип обозначен нами, как вариант III₁.

Мы увидим из дальнейшего, что вариант III вызывает у мыши уже не острое заболевание, но длительную, хроническую болезнь. Из крови сердца мыши, погибшей через 7 месяцев—нами был изолирован вариант III₁.

6. МУТАНТЫ, КАК НОСИТЕЛИ БАКТЕРИОФАГА.

В первых субкультурах было чрезвычайно легко изолировать бактериофага; достаточно было профильтровать через свечу Шамберлана L₅ бульонную 24-часовую культуру одного из вариантов.

Капля подобного фильтрата, прибавленная к молодой исходной культуре палочки Данича (*virus Danysz*), вызывала в ней полный лизис, а пересев на агаре позволял обнаружить наличие типичных негативных колоний (*plages vierges*). Мы устанавливали наличие бактериофага через каждые десять дней, т. е. в каждой десятой субкультуре. Интенсивность действия фильтратов прогрессивно уменьшалась. После 150 пересевов, фильтраты 24 часовых бульонных культур мутантов I, III, V и VI вызывали еще частичное растворение культуры *Salm. orig.* в жидкой среде и образование многочисленных негативных колоний при распластывании капли на агаре. Что же касается мутанта II и IV—то их фильтраты потеряли способность вызывать растворение культур в бульоне; распластывание же капли смеси на агаре (согласно технике, указанной в главе I) давало еще несколько негативных колоний.

Фильтраты мутантов VII и VIII потеряли как способность вызывать растворение культур, так и свойство образовывать негативные колонии.

Тогда, нами были проделаны опыты с целью убедиться, не могут ли одни варианты служить „детекторами“ для других или, иначе говоря, не являются ли некоторые из вариантов более чувствительными по отношению к гетерологическому симбиотическому бактериофагу, чем гомологичный симбионт?

В этих целях, мы профильтровали через свечу культуры вариантов VII и VIII и воздействовали этим фильтратом на культуру каждого из восьми вариантов.

Нам не удалось обнаружить заметного просветления в жидких средах, но посеы смесей фильтрата и культура дали наличие типичных негативных колоний: для фильтрата варианта VII—с культурой варианта II, а для фильтрата варианта VIII—с культурой варианта VII.

Таким образом, после 150 последовательных субкультур, каждый из 8 вариантов является еще носителем бактериофага, но вирулентность его (во всяком случае, в отношении исходного штамма *Salmonellae*) ослаблена и степень ослабления вирулентности различна для каждого из восьми вариантов.

Бактериофаги, находящиеся в симбиозе с вариантом VII и VIII кажутся даже лишенными какого-либо действия в отношении ис-

ходного штамма и могут быть уловлены лишь путем изучения их действия на другие варианты, используемые, в данном случае, в качестве „детекторов“.

Мы увидим, в дальнейшем, все значение этого факта.

В августе 1933 г., т. е. спустя сорок месяцев от начала работы—повторные опыты, произведенные с помощью наиболее чувствительных методов определения бактериофага—не позволили нам обнаружить фага, проявляющего активность в отношении исходного штамма *Salmonellae*, ни у одного из восьми изученных вариантов.

Можно было бы заключить, что бактериофаг, в течении пассажей был элиминирован и отсутствует в изучаемых культурах; дальнейшие опыты докажут неправильность подобного заключения. Фактом остается лишь полная потеря вирулентности бактериофага по отношению к исходному штамму *Salmonellae*: шестикратные пассажи, произведенные согласно технике, приводимой в главе I, не смогли вернуть эту потерянную вирулентность.

Я был наведен на открытие „детекторов“ фактом полной инактивности фильтрата мутанта VIII по отношению к исходному штамму *Salmonellae*; мои поиски направились в сторону определения чувствительности других мутантов к фильтрату мутанта VIII; если бы какой нибудь из них оказался поддающимся действию этого фильтрата—возникла возможность открытия симбиотических бактериофагов с помощью особо чувствительных штаммов.

Предположение наше оправдалось: мутант VII оказался чувствительным по отношению к бактериофагу, носимому мутантом VIII. Барнет (Burnet), впоследствии, показал, что некоторые штаммы *Salmonellae gallinarum* (b. *Sanguinarum* Klein) могли служить детекторами для обнаружения бактериофага, носимого определенными штаммами различных сальмонелл.

Нами было испробовано действие фильтратов восьми отобранных мутантов на 2 штамма *Salm. Sanguinarum* (1-й, Гарвардский, штамм типа smooth; II-й; Корнельский, штамм типа rough) и на один из штаммов следующих видов: *Salm. suispestifer*, *anatum*, *pullorum*, *Aertryck*, *Schottmüller Paratyphi*, *Eberthella typhi* и *Shigella dysenteriae*. Пробы были проведены с помощью метода „негативных колоний“, описанного в I главе.

При применении, в качестве детекторов, культур *Salm. anatum*, *pullorum*, *Aertryck*, *Schottmüller*, *Paratyphi*, *Eberthellae typhi* и *Shigellae dysenteriae* ни у одного из мутантов не удалось обнаружить наличия бактериофага.

Однако, следует отметить одно обстоятельство; фильтрат мутанта III S воздействовал на *Salm. Schottmulleri* чрезвычайно свеоб-

разно: в пробирке, отвечающей наименьшей концентрации фильтрата—выросшая культура оказалась слизистой, тягучей, напоминая культуру палочки Фридлендера. Это видоизменение, вдобавок непрочное и исчезнувшее после третьего пересева, возможно, объясняется наличием бактериофага, недостаточно мощного для того, чтобы вызвать образование негативных колоний, но могущего вызвать видоизменение паратифозной палочки в слизистую модификацию.

Результаты, полученных при применении фильтратов мутантов на культуры *Salm. gallinarum* (и на гладкий, и на шероховатый варианты) и *Salm. Suipestifer*—даны в прилагаемой таблице.

Цифры обозначают количество негативных колоний, пересчитанных на кубический сантиметр фильтрата, т. е. количество бактериофагных телец, активных по отношению к микробу-детектору. Я подчеркиваю слово активный, так, как сравнение трех приводимых цифр с несомненностью доказывает, что в фильтратах, наряду с бактериофажными корпускулами, активными по отношению к тому или иному микробу-детектору—находятся бактериофаги, инактивные по отношению к одному, но действенные по отношению к двум остальным детекторам.

Таблица № 1.

ДЕТЕКТОРЫ.

Количество негативных колоний в к. с. фильтрата.

Фильтраты	Детекторы		
	Штамм <i>Salm. gal.</i> гладк.	<i>Salm. gal.</i> шерох	<i>Salm. suipestifer</i>
<i>Salm.</i> Исходн. штамм .	0	0	0
Мутант I	1.600.000(1)	0	160.000(1)
Мутант II	4.800.000(2)	2.736.000(1)	90.000(1)
Мутант III .	22.400.000(1)	2.192.000(1)	512.000(1)
Мутант III .	17.600.000(1)	3.280.000(1)	64.000(2)
Мутант III .	12.800.000(1)	3.252.000(1)	0
Мутант IV .	25.600.000(1)	2.784.000(1)	1.920.000(1)
Мутант V	8.200.000(1)	2.640.000(1)	128.000(1)
Мутант VI .	0	0	64.000(3)
Мутант VII	19.200.000 (2)	1.952.000(1)	1.632.000(3)
Мутант VIII	0	0	812.000(1)

1) Маленькие негативные колонии, в 1 милл. диаметром, агар на их уровне—совершенно стерилен.

2) Большие негативные колонии, от 2 до 2,5 м. диам., агар на их уровне—совершенно стерилен. •

3) Большие негативные колонии от 2 до 2,5 мил. в диамет. покрыты равномерной, тоненькой пленкой вторичной культуры.

Наиболее активными оказались бактериофаги, сожительствовавшие с мутантом V, т. к, они были способными вызывать полный лизис бульонной культуры обоих штаммов *Salmonellae gallinarum*. Действие же бактегов, содержащихся в фильтрах других мутантов оказалось слабым в отношении культур микробов-детекторов в жидкой среде.

Читателю, не занимавшемуся, специально, бактериофагом, может показаться странным тот факт, что результаты действия фильтра мутанта V на культуру детекторов в жидкой среде (на бульоне) и на твердой (на агаре)—не совпадают: проба на агаре (путем подсчета негативных колоний) показывает, что количество бактериофагных корпускулов в этом фильтрате меньше, чем в фильтрах остальных мутантов, однако, лишь он в достаточной степени активен, чтобы вызвать полное растворение взятых культур в жидкой среде.

В действительности, тут никакого „несовпадения“ нет: я показал, многочисленными опытами, приведенными в моих прежних работах, что проба на агаре дает лишь число бактериофагных корпускулов, но не дает никаких указаний относительно их „качества“—вирулентности. Существуют бактериофаги, обладающие столь слабой вирулентностью, что множество миллиардов их не в состоянии вызвать растворения бульонной культуры чувствительной бактерии; наряду с этим, есть расы бактериофагов такой активности, что достаточно одного лишь корпускула для полного и быстрого лизиса соответствующей культуры.

Впрочем тот факт, ныне подтвержденный с разных сторон, что путем метода пассажей, можно усилить (экзальтировать) вирулентность слабого бактериофага—достаточен для признания вирулентности бактериофага—изменчивым свойством.

Частый случай с мутантом V является иллюстрацией общего характера действия бактериофага.

Приведенные опыты показывают, что спустя сорок месяцев от их начала и в результате многих сотен пересевов—все мутанты продолжают быть „носителями“ бактериофагов, но эти бактериофаги потеряли всякого рода активность по отношению к исходному штамму сальмонеллы, также, как и в отношении *Salm. pullorum* и

Eberthella typhi, по отношению к которым первоначальный бактериофаг обладал резко выраженным литическим действием.

Степень размножения бактериофага, находящегося в состоянии симбиоза—чрезвычайно слаба: в фильтрате исходного бактериофага, воздействующего на ультра-чистую культуру *Salm. orig* насчитывается, по окончании процесса лизиса, от одного до пяти миллиардов бактериофажных корпускулов в к. с.; как видно из приводимой таблицы, максимальное количество их в фильтрате мутантов—равно 25 миллионам т. е., количеству, в 100 раз меньшему.

В начале нашего опыта, бактериофаг, вошедший в симбиоз, был одним и тем-же для всех мутантов (т. к. все они происходят из одной и той же вторичной культуры); во время первых пересевов бактериофаги, содержащиеся в фильтрах мутантов, продолжали сохранять свои первоначальные свойства. Таким образом, получается впечатление, что бактериофаг не претерпевает скачкообразной мутации; лишь после сорока месяцев непрерывных пересевов мы наблюдаем в каждом из бактериофагов, происходящих от мутантов—своеобразные изменения в свойствах.

В симбиозе бактерия-бактериофаг варьируют не только свойства бактерий, но и свойства бактериофагов: поведение обоих живых начал, в этом смысле, одинаково.

Я привел, в многочисленных работах, ряд экспериментальных доказательств принадлежности всех бактериофагов к одному и тому же виду; своеобразие свойств каждого из них вытекает из разнообразной способности приспособления к определенным условиям существования. Предшествующие опыты представляют прямое доказательство вариабельности бактериофага в результате приспособления.

В свете этих опытов, является совершенно законным предположение, что чрезвычайное разнообразие свойств бактериофагов, изолируемых из тех или иных природных сред, вызвано повторными симбиозам за счет различных бактерий.

7. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МУТАНТОВ К БАКТЕРИОФАГУ.

В течение пятидесяти первых пересевов, все мутанты оказывались устойчивыми по отношению к исходному бактериофагу, т. е. к тому бактериофагу, который обусловил их вариацию. Вы видели из предшествовавшей главы, что бактериофаг, „носимый“ этими вариантами, постепенно, по мере пересевов, терял свою вирулентность в отношении исходного штамма *Salmonellae*: параллельно, мутанты становились все более и более чувствительными к воздей-

ствию исходного бактериофага, за исключением мутанта VIII, который сохранил абсолютную устойчивость. Изложенное показывает, что тут не может быть речи о жестком правиле; каждый, отдельно взятый, случай имеет свою индивидуальность (что, впрочем, вообще всем симбиозам).

После 100 пересевов, мутанты II, III, VI и VIII были еще вполне устойчивыми по отношению к исходному фагу: мутанты I, IV, V и VII проявляли только относительную устойчивость (отсутствие лизиса в жидких средах, при наличии негативных колоний на агаре).

После 150 пересевов—все мутанты оказались чувствительными к бактериофагу, за исключением мутанта VIII.

В апреле 1933 г. чувствительность каждого из мутантов к исходному бактериофагу была проверена обоими способами: лизис в жидких средах и подсчет негативных колоний на агаре.

Проба на растворение осуществлялась следующим образом: 0,025 к. с. исходного бактериофага (бульонная культура *Salmonellae* orig. лизированная исходным бактериофагом и профильтрованная через свечу Шамберлана L_5) прибавляется к 10 к. с. питательного бульона (РН=7;8) в который вводится 0,2 к. с. бульонной двадцати-четырехчасовой культуры соответствующего мутанта.

Проба на агаре проводилась согласно методике, указанной в главе I.

Таблица II дает сводку результатов этих опытов. Цифры указывают на количество активных, в отношении исследуемого мутанта, бактериофажных телец, содержащихся в кубическом сантиметре взвеси исходного бактериофага.

1) Маленькие негативные колонии в 1 милл. диамет. с четко-обрезанными краями.

2) Маленькие негативные колонии в 1 милл. диамет. с расплывч. краями.

3) Очень маленькие негативные колонии размером в острие иголки, окруженные ореолом.

4) Большие негативные колонии диаметром в 2 милл. с четкими краями.

Приступим к разбору полученных результатов: сравнение количеств активных бактериофажных телец по отношению к исходному (т. е. ультра-чистому) штамму *Salmonellae* и к штаммам—мутантам—доказывает с несомненностью, что проба на агаре не указывает на тотальное количество содержащихся в фильтрате корпускулов, но выявляет лишь те корпускулы фага, которые активны в отношении испытываемой культуры.

Таблица № 2.

Культуры, подвергшиеся действию бактериофага	Лизис в бульоне	Время появления вторичн. культ.	Число активных корпускул в к. с.
Salmon. orig.	Полный	4 суток	1.800.000.000 (4)
Мутант I	»	2	96.000(2)
Мутант II		4	12.800.000(1)
Мутант III		3	10.600.000(2)
Мутант III		3	6.400.000(1)
Мутант III		3	6.400.000(1)
Мутант IV	»	Не появляется	12.800.000(1)
Мутант V		1 мес.	10.600.000(1)
Мутант VI	Никакого	—	96.000(3)
Мутант VII	Полный	Не появляется спустя месяц	12.800.000(4)
Мутант VIII	Никакого	—	0

Бактериофаг, воздействующий в этих опытах на различные мутанты—один и тот-же; внешний же вид негативных колоний—различен, в зависимости от взятого в опыт микробного варианта. Отсюда следует, что характер негативных колоний зависит не только от свойств бактериофага, но и от свойств культуры, на которую он воздействует.

Приведенные наблюдения выясняют ошибку Bail'a, и, вслед за ним, других исследователей, желавших классифицировать бактериофагов по внешнему виду негативных колоний, или даже отличить с помощью этого признака один бактериофаг от другого: мы видим как один и тот же бактериофаг может дать четыре различных аспекта негативных колоний, в зависимости от свойств мутантов, на которых он действовал.

Эти опыты доказывают также, что в симбиозе бактерия-бактериофаг, обуславливающим возникновение мутанта—каждый из симбионтов подвергается вариациям и что эти вариации далеко не однообразно протекают у различных мутантов.

С одной стороны мы видим, что бактериофаги, „носимые“ различными мутантами, потеряли резкое действие по отношению к исходному штамму *Salmonellae* и что каждый из этих бактериофагов, происходящих от одного и того-же литического начала, ведет себя

различным образом по отношению к разным детекторам. Мы видим, что в одно из двух составных начал: бактерия—у некоторых вариантов рекуперировала свою чувствительность к исходному бактериофагу, но это восстановление происходит у каждого из мутантов различным образом: мутанты IV, V и VII более чувствительны к исходному бактериофагу, чем исходный штамм *Salmonellae*; мутанты II и III обладают практически той же самой чувствительностью, что и этот штамм; мутанты I и VI являются менее чувствительными и мутант VIII абсолютно не поддается действию бактериофага. Впрочем, из этих опытов видно, что не существует никакого параллелизма между вариациями в свойствах обоих начал, входящих в симбиоз.

8. ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СВОЙСТВ.

Ферментативные свойства мутантов I, III, VII и VIII претерпели изменения в самом же начале образования вариантов, но эти модификации были переходящими; к сотому пересеву лишь мутанты I и III имели еще ненормальные ферментативные свойства. После сорока месяцев непрерывных пересевов ферментативные свойства снова стали идентичными с теми, которыми обладал исходный штамм *Salmonellae*, в виду чего я не настаиваю на этих переходящих изменениях.

9. ВАРИАЦИИ И ВИРУЛЕНТНОСТИ.

Нами была, рядом точных опытов, выяснена степень вирулентности каждого из восьми вариантов после 10, 100 и 150 пересевов. Затем, спустя 40 месяцев, мы еще раз удостоверились в том, что мутанты, потерявшие вирулентность, к 150 пересеву продолжают быть авирулентными.

После 10 пересева: мутанты I и III авирулентны: все 10 зараженных мышей выживают. Мутанты VI и VIII оказались обладавшими той же степенью вирулентности, как и исходный штамм *Salmonellae*: (10 мышей из 10 взятых в опыт погибают от дозы в 0,1 кубического сантиметра *per os*). Мутант II (4 мыши на 10 погибают), мутант IV (2 мыши на 10 погибают) и мутант VII (5 мышей на 10 погибают), менее вирулентны, чем исходный штамм *Salmonellae*.

После ста пересевов мутанты I и III все еще авирулентны, но становятся также авирулентными и мутанты IV и VII. Мутанты II и V (1 мышь из 10 погибает) слабо вирулентны. Что же касается мутантов VI и VIII, то их вирулентность оказывается более высокой, чем вирулентность исходного штамма *Salmonellae* (вирулентность

экзальтирована, приблизительно, вдвое, как это доказывают опыты, осуществленные с дозами 0,1; 0,01; 0,001 к. с.; при этой последней дозе исходный штамм *Salmonellae* убивает 2 мышей из 10; аналогичная доза мутанта VI убивает 3 мышей из 10, а мутант VIII—5 мышей из 10).

Как читатель убедится из последующего, приведенные результаты по отношению к мутанту III могут быть не вполне точны, так как выжившие мыши сохранялись под наблюдением всего лишь 20 дней.

После 150 пересевов нами были получены следующие результаты. Исходный штам *Salmonellae*: 0,01 к. с. 18-ти часовой бульоной культуры убивает регулярно 10 мышей на 10, в срок от 6 до 14 дней.

Мутант I: полностью потерял вирулентность; мыши получали ежедневно в течение месяца дозу в $1/2$ к. с. бульоной культуры на хлебе, и не проявляли никаких болезненных симптомов в течении полугодового наблюдения.

Мутант II: слабо вирулентен. Одна мышь на 10 погибает после приема *per os* 0,01 к. с. культуры.

Мутант III: 10 мышей получают дозу в 0,01 к. с. *per os* и вторая группа (в 20 мышей), дозу в 0,1 к. с., также *per os*. Среди этих последних, одна мышь погибает спустя 42 дня после заглатывания инфицирующей дозы; из крови сердца погибшей мыши выделен микроб, аналогичный мутанту III. Семь из выживших мышей погибли в течение лета и остались без вскрытия. 10 ноября, т. е. семь месяцев спустя после получения инфицирующей дозы, одна мышь погибла и, из крови сердца, у нее выделен микроорганизм, представляющий все свойства мутанта III; этот микроб добавлен к серии изучаемых вариантов под названием мутанта IIIS. Семь из остающихся мышей к этому времени были убиты хлороформом; засев их селезенки на соответствующие питательные среды дал, в четырех случаях из семи, чистые культуры микробов, адекватных мутанту III.

Ни одна из мышей этой группы (получивших минимальную дозу в 0,01 к. с.), не погибла; но на вскрытии, произведенном также спустя 7 месяцев, у двоих из них из селезенки был выделен микроорганизм, аналогичный мутанту III, примененному для их заражения.

Таким образом, мы видим, что мутант III лишился способности вызывать то острое заболевание, которое характерно для исходного штамма *Salmonellae* - родоначальницы, но приобретает новое

свойство: вызывать хронический, долго тянувшийся, инфекционный процесс.

Этот опыт нам указывает на возможный механизм перехода в хроническое состояние острых инфекционных заболеваний; причиной этого процесса может явиться образование мутанта в организме под влиянием бактериофага. Этот процесс обуславливается не любым мутантом, так как из восьми вариантов лишь один оказался способным вызывать его, но лишь тем мутантом, свойства вирулентности которого модифицированы в направлении склонности к хроничности. Совершенно несомненно, что этот вывод является лишь простым констатированием результатов опыта, т. к. только углубленное изучение условий возникновения подобных мутантов может показать, в чем заключается закономерность возникновения этих новых свойств.

Процесс образования мутантов с склонностью к хроничности может наблюдать не только в экспериментальных условиях, в пробирке, но и в природе: в течение наших изысканий мы получали неоднократно партии в 50 мышей, приобретаемых для наших опытов. В каждой из трех различных партий одна или две мыши показались нам при получении больными и были убиты. Все три партии остались под наблюдением в течение месяца; за время наблюдения не отмечалось ни одного смертного случая, но в целях убедиться, что эти животные были вполне здоровы, многие из них были убиты и их селезеночная пульпа засеяна на соответствующие питательные среды: у ряда из них констатировано наличие истинных мутантов, представлявших большую аналогию с нашими мутантами I, V и VII.

Еще любопытнее случай с другим штаммом *Salmonellae enteritidis*: Парижский Пастеровский Институт изготавливает культуры так называемого „вируса Данича“ (*virus Danysz*), который предоставляется населению для истребления мышей и крыс. Этот вирус есть ни что иное, как *Salmonella enteritidis* и его происхождение идентично происхождению нашей исходной *Salmonellae*; только штамм, служивший для наших исследований поддерживался в течение более 30 лет в American Type Culture Collection и ни разу не был проведен через организм животного, тогда как штамм Пастеровского Института, издавна претерпевает многочисленные пассажи через организмы мышей, для поддержания высокой степени вирулентности. Этот последний штамм в настоящее время гипервирулентен и вызывает смерть крысы, даже если микроб попадает в ее организм путем заглатывания. Я обследовал этот штамм и удостоверился в том, что тут мы имеем дело с мутантом, носителем фага,

тогда как коллекционный штамм, применяемый мною, был ультра-чистым. Фильтрат бульонной культуры штамма Пастеровского Института давал многочисленные резко очерченные негативные колонии, но не по отношению к исходному штамму *Salmonellae*, а при воздействии на мутанта VII (аналогично тому, что имеет место с мутантом VIII, также гипервирулентным). Таким образом, нужно заключить, что повышенная вирулентность штамма Пастеровского Института получается не просто путем повторных пассажей через организм животного, но обуславливается образованием в организме пассажного животного симбиоза с бактериофагом, в результате которого имеет место формирование варианта с повышенной вирулентностью.

Все эти взгляды на возрастание и понижение вирулентности на переход инфекции в хроническую форму должны казаться смелыми, но они с полной ясностью вытекают из экспериментальных фактов.

Продолжаем определение вирулентности остальных мутантов.

Мутант IV: полностью потерял вирулентность. 20 мышей получают дозу в 0,01 к. с., 7 месяцев спустя все мыши живы. Семь мышей получают в течении 6 дней ежедневную дозу в 0,2 к. с. и остаются вполне здоровыми.

Мутант V: слабая вирулентность: заглатывание 0,02 к. с. убивает в среднем 2 мышей на 10.

Мутант VI: вирулентность одной и той же интенсивности с исходным штаммом *Salmonellae*.

Мутант VII: слабая вирулентность: заглатывание 0,01 к. с. ведет к гибели в среднем 3 мышей на 10.

Мутант VIII: вирулентность по меньшей мере одинаковая с вирулентностью исходного штамма *Salmonellae* (доза в 0,001 к. с. исходного штамма *Salmonellae*—убивает 7 мышей на 10; равная доза мутанта VIII губит 9 мышей на 10).

Я выше указал на факты, доказывающие, что не только в специфических условиях эксперимента, но естественным путем—в организме образуются варианты под действием бактериофага.

Возьмем другой пример. Недавно мой коллега по Иэльскому Университету, проф. Ретгер изучил вирулентность различных штаммов *Salmon. pullorum*, выделенных при хронических случаях этой инфекции. Он обнаружил, что эти штаммы были носителями бактериофага; это были симбиозы, возникшие в естественных условиях; Ретгер констатировал, что их вирулентность резко отличается от вирулентности ультра-чистой *Salmon. pullorum*; многие из них были полностью авирулентными.

10. НОСИТЕЛИ МУТАНТОВ.

Мутанты разнообразной вирулентности одинаково легко возникают как *in vitro* так и *in vivo*. К этому выводу меня привело, уже давно, изучение бациллоносительства при холере; работа над вибрионами, изолированными у носителей, показала мне, что дело шло о вибрионах—мутантах, сожительствующих с бактериофагом.

Я неоднократно убеждался, что то-же самое имело место по отношению к брюшно-тифозной палочке. Но мы только что видели в отношении *Salm. enteritidis* т. е. микроба принадлежащего к паратифозной группе), что вирулентность мутантов варьирует, начиная от полной безвредности до резко повышенной агрессивной способности; значит, может иметь место как носительство инфекционное, так и носительство неинфекционное, в зависимости от вирулентности мутанта, находящегося в кишечнике бациллентрегеров.

Скажу больше: в отношении холерного вибриона я установил бесспорно, в опытах проведенных в Индии 1927 г., во время эпидемического взрыва, что в холерное время существуют не только носители авирулентных вибрионов, но есть и выделители бактериофагов, агентов выздоровления, как мы это увидим в следующей главе. Все мутанты холерного вибриона авирулентны; иначе обстоит дело для микроорганизмов из рода *Salmonella* (в том числе и для тифозной палочки), среди которых существуют, наряду с авирулентными мутантами, мутанты вирулентные и даже гипервирулентные. По всей вероятности, эта особенность объясняет различие в эпидемиологии этих двух заболеваний. Холера свирепствует в определенной стране в течени 2 или 3 лет, а затем исчезает полностью, несмотря на то, что эпидемия оставляет после себя хвост многочисленных носителей вибрионов; для возникновения новой эпидемии нужен завоз свежего случая из эндемической зоны (для Индии—Бенгалия).

С брюшным тифом дело обстоит иначе, т. к. носители, или вернее говоря, некоторые из носителей являются резервуарами вирулентных вариантов; этот факт объясняет эндемичность тифа на всем земном шаре. Так называемые эпидемии брюшного тифа являются лишь обострениями мировой пандемии.

Я хотел убедиться в том, являются ли мыши, экспериментально превращенные в носителей авирулентного мутанта, иммунными в той или иной степени по отношению к болезни, вызванной исходным штаммом.

12 мышей было скармливаемо, в течение 8 дней, хлебом, смоченным 0,2 к. с. культуры мутанта I. Затем они получили бульон-

ную культуру *Salm. enteritidis* в дозе 0,01 к. с., после чего им давалось снова, в продолжении 10 дней, 0,1 к. с. культуры мутанта I. Две из этих мышей погибли через 11 и 14 дней после заражения, остальные выжили. 12 контрольных мышей, получивших 0,01 к. с. *Salm. enteritidis*, погибли между 8 и 13 днем.

В другом опыте, 12 мышей были заражены, одновременно с 6-ю контрольными животными, 0,01 к. с. культуры *Salm. enteritidis*. Эти 12 мышей получали, в течение 10 дней, по 0,1 культуры мутанта 1: три мыши погибли на 9—12 и 18 день, 9 остальных выжили. Все шесть контрольных животных погибли.

Эти опыты показывают, что носители некоторых авирулентных мутантов могут пользоваться состоянием повышенной устойчивости по отношению к заболеванию, вызванному ультра-чистой исходной культурой.

11. АГГЛЮТИНАЦИОННАЯ И АГГЛЮТИНОГЕННАЯ СПОСОБНОСТЬ МУТАНТОВ

Нами было изготовлено для каждого из мутантов по агглютинирующей сыворотке: для иммунизации животных мы применяем мутантов, испытавших, приблизительно, 300 пересевов; кроликам вводились интравенно по 5 к. с. растущих количеств бактериальной эмульсии (0,2, 0,5, 1,2 и 3 к. с.) через интервалы в 5 дней; животные обезкровливались спустя 12 дней после последней инъекции.

В следующей таблице результаты указаны цифрами, значение которых следующее:

0: полное отсутствие агглютинации;

1: несколько агглютинированных хлопьев при отсутствии просветления жидкости над ними;

1: взвесь продолжает быть мутной, но много агглютинированных хлопьев;

3: всплывающая над осадком жидкость слегка опалесцирует;

4: агглютинация полная; всплывающая над осадком жидкость совершенно прозрачна.

Таблица III.

Опыты перекрестной агглютинации.

1. Сыворотка против *Salm. orig.* воздействующая на:

	Salm. orig.	Мут. I	II	III ^T	III ^C	III ^F	IV	V	VI	VII	VIII
1 : 100	4	3	4	4	3	0	3	0	4	0	4
1 : 200	4	4	4	4	3	0	3	0	4	0	4
1 : 400	4	3	4	4	2	0	3	0	4	0	4
1 : 800	3	3	4	4	2	0	3	0	4	0	4
1 : 1600	2	2	3	3	1	0	2	0	4	0	4
1 : 3200	2	1	3	3	1	0	1	0	4	0	4

2. Сыворотка против мутанта I, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III ^T	III ^C	III ^T	IV	V	VI	VII	VIII ¹
1:100	4	4	4	4	0	0	0	0	4	0	4
1:200	4	4	4	4	0	0	0	0	4	0	4
1:400	3	4	4	4	0	0	0	0	4	0	4
1:800	2	4	4	4	0	0	0	0	3	0	4
1:1600	1	4	4	4	0	0	0	0	3	0	4
1:3200	1	3	4	0	0	0	0	0	1	0	4

3. Сыворотка против мутанта II, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III ^T	III ^C	III ^T	IV	V	VI	VII	VIII ¹
1:100	3	4	4	4	3	3	4	1	4	4	4
1:200	3	4	4	4	3	3	4	0	4	4	4
1:400	3	4	4	4	3	3	2	0	4	2	4
1:800	3	4	4	4	3	3	1	0	4	2	4
1:1600	3	4	4	4	3	3	0	0	4	0	4
1:3200	3	3	3	4	3	3	0	0	4	0	4

4. Сыворотка против мутанта III^T, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III ^T	III ^C	III ^T	IV	V	VI	VII	VIII ¹
1:100	3	0	3	3	2	0	3	0	0	0	4
1:200	2	0	3	3	2	0	2	0	0	0	4
1:400	1	0	3	2	1	0	0	0	0	0	4
1:800	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	4
1:1600	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	4
1:3200	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3

5. Сыворотка против мутанта III^S, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III ^T	III ^C	III	IV	V	VI	VII	VIII ¹
1:100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

6. Сыворотка против мутанта III^F, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III ^T	III ^C	III	IV	V	VI	VII	VIII ¹
1:100	2	3	3	0	3	2	3	2	4	3	4
1:200	2	2	3	0	3	2	3	2	4	2	4
1:400	2	2	3	0	2	2	2	1	4	1	4
1:800	2	2	3	0	2	1	2	1	4	0	3
1:1600	1	2	2	0	1	1	1	0	3	0	2
1:3200	1	1	1	0	1	1	1	0	3	0	1

7. Сыворотка против мутанта IV, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III T	III C	III	IV	V	VI	VII	VIII
1:100	0	0	2	0	0	0	2	2	0	4	0
1:200	0	0	1	0	0	0	1	1	0	4	0
1:400	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3	0
1:800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
1:1600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
1:3200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

8. Сыворотка против мутанта V, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III T	III C	III	IV	V	VI	VII	VIII
1:100	3	3	4	3	0	3	4	3	0	4	4
1:200	3	3	4	2	0	3	2	3	0	3	4
1:400	3	2	4	2	0	3	2	3	0	2	4
1:800	1	1	4	2	0	2	1	2	0	1	3
1:16000	0	0	3	0	2	0	0	1	0	0	3
1:3200	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	1

9. Сыворотка против мутанта VI, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III T	III C	III	IV	V	VI	VII	VIII
1:100	3	4	4	4	3	2	3	2	4	3	4
1:200	2	3	4	4	2	2	2	1	4	3	4
1:400	2	2	4	4	1	1	1	0	4	2	4
1:800	2	2	3	3	1	0	0	0	4	0	3
1:1600	1	1	2	1	0	0	0	0	3	0	3
1:3200	1	0	1	1	0	0	0	0	2	0	2

10. Сыворотка против мутанта VII, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III T	III C	III	IV	V	VI	VII	VIII
1:100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

11. Сыворотка против мутанта VIII, действующая на:

	Salm. orig.	I	II	III T	III C	III	IV	V	VI	VII	VIII
1:100	4	3	4	3	3	2	3	0	4	2	4
1:200	3	3	4	2	2	2	3	0	4	1	4
1:400	2	3	4	2	2	2	3	0	4	0	4
1:800	2	2	3	2	2	1	1	0	4	0	4
1:1600	2	2	2	1	2	0	1	0	4	0	3
1:3200	1	1	0	1	1	0	0	0	4	0	2

Мне кажется, тщетно пытаться извлечь и этих опытов окончательное заключение или пытаться их долго комментировать. Скажем только, что результаты, с первого взгляда, кажутся неожиданными; я напоминая, что нами произведено два ряда перекрестных агглютинаций; один после 50 пассажей, другой после 300 пассажей. Чтобы не усложнять вопроса, я даю здесь сводку только этой последней серии, тем более, что общие результаты обеих серий совпадают; не может быть никакого сомнения в отношении их точности.

Выводы-же к которым могут привести эти опыты, мне кажутся интересными: во-первых, нам приходится констатировать, что свойства агглютиногенности и агглютинабельности, хотя и представляют, вообще, некоторый параллелизм, но не являются неразрывно связанным одно с другим. Вариации этих свойств в результате симбиоза являются чрезвычайно глубокими.

Второй, общего порядка, вывод заключается в установлении чрезвычайной сложности тех факторов, которые детерминируют свойства агглютиногенности и агглютинабельности. И, наконец, (я разовью более полно эту мысль к концу главы), все то своеобразие, которое мы обнаруживаем при перекрестных агглютинациях между мутантами, сформированными волей экспериментатора от одной и той же исходной бактерии,—выявляется и при перекрестных агглютинациях между разнообразными членами группы *Salmonella* и даже между членами соседних бактериальных групп.

12. БАКТЕРИЦИДНОСТЬ АЛЕКСИНА ПО ОТНОШЕНИЮ К МУТАНТАМ.

Общим местом является утверждение, что бактерия, сенсibilизированная специфической противосывороткой, разрушается, лизируется при воздействии на нее алексина (комплемента) нормальной сыворотки. Это казалось бесспорно установленным работами Пфейффера (Pfeiffer), Бордэ (Bordet) Эрлиха (Ehrlich) и множества иммунологов, которые после них занимались изучением этого вопроса. Однако, опыты, произведенные нами с применением в качестве антигена мутантов, показывают, что это явление не имеет той всеобщности, которую ему старались приписать.

До сих пор, предполагалось, что бактерии остаются пассивными в этом процессе лизиса, происходящем под воздействием сывороточных ингредиентов. Нам-же удалось обнаружить, что бактерии играют активную роль и что разрушение или отсутствие лизиса бактериальной клетки под влиянием алексина, независимо от того, сенсibilизирована клетка специфической сывороткой или

нет,—обуславливается свойствами самой бактерии. Принимая во внимание новизну факта и значение его для иммунологии, я изложу несколько подробнее примененную методику, тем более, что для сравнимости результатов исследований подобного рода—методика имеет чрезвычайно большое значение. Мы, вначале, произвели ряд опытов в целях найти среду, в которой бактерии оставались бы живыми в течении нескольких часов, но не размножались, сохраняясь, количественно, стабильными (размножение могло бы маскировать полученные результаты). Эта предосторожность предпринималась нами несмотря на то, что риск экспериментальной ошибки тут чрезвычайно мал, т. к. заключение выводится на основе сравнения между бактериальными эмульсиями, подвергшимся действию алексина, и контрольными эмульсиями, поставленными в те же самые условия, но без алексина.

Нижеследующая среда оказалась наилучшею:

Жидкость Карреля (РН 7,6) 980 к. с.

Бульон „Vitam“ 20 „ „

Бульон „Vitam“ приготовлен экстрагированием дрожжей (патентованный германский препарат). 10 грамм этого продукта, растворенного в литре воды, при добавлении 5 грамм поваренной соли, соли представляют собой питательную среду, которая приводит к РН 7,4—7,6. В крайнем случае, при отсутствии экстракта „Vitam“, допустимо применять мясной экстракт или даже обычно употребляющийся в бактериологии питательный бульон.

Идущие в опыт микроорганизмы выращиваются на агаре. Затем, после 18 часов инкубации, бактериальный налет на агаре смывается вышеуказанной средой (10 к. с. на пробирку агара); эта густая эмульсия в дальнейшем разбавляется той же самой средой, с таким расчетом, чтобы получить опалесценцию, приблизительно равную той, которую дает бульонная культура взятого микроба после 24 часов инкубации (это соответствует, приблизительно, 3 номеру скалы нефелометров). Эмульсии, содержащие подходящее для опытов количество бактерий, представляют собой разбавления, варьирующие, в зависимости от взятых в опыт микробов, от 10^{-5} до 10^{-7} маточной эмульсии. При всех разбавлениях применяется смесь Карреля-бульон „Vitam“. Опыт никогда не должен быть произведен с бульонными разводками, т. к. в бульонных культурах, уже после нескольких часов роста, имеется большое количество мертвых бактериальных тел.

Алексин (комплемента), примененный в наших опытах, получался нами от морской свинки; полученная кровь центрифугировалась и применялась спустя 3—6 часов после кровопускания.

Для того, чтобы получить более стандартную сыворотку, мы смешивали, обычно, сыворотки 4 морских свинок. Все эксперименты проводились по следующей схеме.

Контрольные пробирки: 0,2 к. с. разведения бактериальной взвеси (10^{-5} до 10^{-7}).

0,1 к. с. нормальной сыворотки, прогретой до 57° в течении 30 минут.

1,7 к. с. смеси жидкость Карреля-бульон.

Пробирка с алексином: 0,2 бактериальной взвеси,

0,1 свежей сыворотки морской свинки.

1,7 смеси жидкость Карреля—бульон.

Пробирка с противосывороткой и алексином (сенсibiliзатриса и комплемент).

0,2 контрольной взвеси.

0,1 противосыворотки (сенсibiliзатриса),

0,1 свежей сыворотки морской свинки (комплемента).

Как только смеси были разлиты по пробиркам, от каждой из них бралось 0,1 к. с. и смешивалось с 15 к. с. питательного однопроцентного агара, расплавленного и охлажденного до $42-43^{\circ}$ градусов; смесь выливалась в чашку Петри; та же операция повторялась после 3-х часового пребывания в пробирках при температуре 37° . Чашки Петри помещались в термостат при 37° на 24 часа, после чего приступали к подсчету колоний. Когда количество колоний на чашке Петри было меньше 200, они подсчитывались одна за другой. Когда же они были более многочисленны, то подсчитывался сектор чашки Петри, равный от $\frac{1}{4}$ до $\frac{1}{20}$ всей поверхности в зависимости от густоты колоний) и результат соответствующим образом перемножался. Полученная цифра округлялась до кратного десяти, если число колоний было меньше тысячи, и до кратного ста, если оно было больше тысячи. Я не могу перечисление здесь всех опытов, которые были осуществлены со всеми взятыми штаммами мутантов, т. к. они слишком многочисленны (нами за время этих опытов использовано свыше 6.000 чашек Петри). Я ограничусь тем, что укажу только на некоторые из них, на выборку, т. к. все серии поставленных опытов абсолютно идентичны.

— В последующих таблицах цифры указывают количество колоний на чашках Петри, т. е. количество бактерий, выживающих в 0,1 к. с. взятой бактериальной взвеси. Ясно, что выводы из опытов производятся на основании подсчета разницы между количеством колоний, выросших на контрольной чашке Петри, и количеством их в чашке, содержащей алексин или сенсibiliзатрису, или

оба этих ингредиента, после 3-х часового контакта. Когда обе цифры одинаковы, или когда вторая цифра больше первой, ясно, что ни о каком бактерицидном действии, в данных условиях, не может быть речи.

В обратном случае—отмечается бактерицидный эффект.

Обычно алексин морской свинки применялся в дозе 0,1 к. с.; антисыворотка (сенсibiliзатриса) применялась также в дозе 0,1 к. с., т. е. и один и другой ингредиент находились в смеси в разведении 1:20.

	Подсчет спустя:	Число колоний:
Бактериальная эмульсия:		
Опыты 21 апреля 1932 г.		
чистая (контроль)	3 часа	2.000
+ алексин (комплемент)		2.000 ¹
+ амбоцептор + алексин		2.000
28 апреля 1932 г.		
чистая (контроль)	3 часа	1.000
+ алексин		1.000
+ амбоцепто + алексин		1.000
14 декабря 1932 г.		
чистая (контр.)		200
+ алексин		200
+ амбоцептор + алексин	спустя 3 часа	200
чистая (контроль)		200
+ алексин		200
+ амбоцептор + алексин		200

Ряд других опытов, произведенных в различные сроки, с различным количеством бактерий, показал, во всех случаях, совпадающие результаты. Мы испробовали действие не только гомологичной антисыворотки, но и сыворотки, изготовленной с помощью всех остальных, изученных нами, типов вариантов. Все дали одинаковые, т. е. отрицательные результаты. Вот например, опыт, произведенный с антисывороткой мутанта II.

	Количество колоний:	
	Непосредственно после смешивания	Спустя 3 часа при 37°
Чистая эмульсия (контроль)	—2.000	—4.000
+ алексин	—2.500	—5.000
+ гомологичная антисыворотка	—2.700	—4.000
+ сыворотка анти-мутант—II	—2.500	—5.000
+ гомологичная сыворотка + алексин	—2.700	—5.000
+ сыворотка анти-мутант II + алексин	—2.700	—4.000

В других опытах, мы вариировали количество алексина, но получали регулярно отрицательный результат. Привожу соответствующую таблицу:

8 апреля 1933 г.	Количество колоний	
	Непосредственный высев	Высев спустя 3 часа при 37°
Контроль (без комплемента)		
—антисыворотка	22	28
+ 0,1 гомологической антисыворотки	17	24
Комплемент ($1/20$ к. с. на пробирку)		
—антисыворотка	13	27
+ 0,1 гомолог. антисыворотки	12	30
Комплемент ($1/40$ к. с. на пробирку)		
—антисыворотка	15	23
+ 0,1 гомолог. сыворотки	12	23
Комплемент ($1/80$ к. с. на пробирку)		
—антисыворотка	20	31
+ 0,1 гомолог. антисыворотки	14	25
Комплемент ($1/160$ к. с. на пробирку)		
—антисыворотка	15	28
+ 0,1 гомолог. антисыворотки	10	34

Подобного рода опыты, многократно повторенные, дающие совпадающие результаты вне зависимости от количества бактерий во взвеси, независимо от разведения комплемента, не взирая на то, применена гомологичная или антимутантная иммунсыворотка—доказывают, что алексин (один или в присутствии антисыворотки, не оказывает ни малейшего бактерицидного или литического действия на взятую бактериальную эмульсию. Короче говоря, сенсibilизированная *Salmonella* (исходный штамм) не разрушается алексином, хотя это и находится в противоречии с тем, что все учебники иммунологии утверждают вот уже свыше 30 лет. Предшествующие опыты, впрочем, могут быть полностью оценены лишь после сравнения с последующими, так как можно было бы на них возразить тем, что получение отрицательных результатов объясняется отсутствием сенсibilизатриссы во взятых иммунсыворотках; последующие опыты опровергают вполне это возражение, т. к. действие означенной сыворотки, отрицательное по отношению к исходному штамму *Salmonella*—чрезвычайно сильно в отношении мутантов, за исключением мутанта I, который ведет себя как *Salm. orig.*

ОПЫТ С МУТАНТОМ I.

Двадцать опытов были реализованы с мутантом I в разные сроки, т. е. они были осуществлены после различных количеств пересевов *in vitro*, варьирующих от 150 до 400.

Результаты всех этих опытов оказались однообразными. Этот мутант (симбионт-носитель бактериофага) ведет себя как исходный штамм *Salmonellae* т. е. он абсолютно нечувствителен к действию алексина или комплекса алексин+сенсibilизатриса. Мне кажется совершенно излишним приводить подробные протоколы всех этих идентичных отрицательных опытов. Я ограничусь тем, что дам два протокола, резюмирующие все опыты в том направлении. В первом, мы проверили действие гомологичной антисыворотки (происходящей от кроликов, подготовленных инъекциями культуры мутанта I), а также действие антисыворотки, полученной в результате обработки кролика исходным штаммом *Salmonellae* и антисывороток, полученных обработкой кроликов различными штаммами остальных мутантов. Во втором опыте мы проверили действия гомологичной антисыворотки в присутствии различных доз комплемента.

Действие различных антисывороток.

Сыворотки	Число колоний			
	Непосредственный высев		Спустя 3 часа при 37°	
	—ком- племент	+ ком- племент	—ком- лемент	+ ком- племент
Без сыворотки (контроль)	50	84	300	210
Анти—Salm. orig	—	—	280	250
анти-мутант I (гомол.)	—	—	180	140
II	—	—	260	260
III T	—	—	210	220
III S	—	—	240	250
III F	—	—	230	240
IV	—	—	260	250
V	—	—	250	250
VI	—	—	240	250
VII	—	—	260	250
VIII	—	—	230	240

Действие различных доз комплемента.

Бактериальная взвесь	Непосред. высев	Высев спу- стя 3 ч. при 37°
Чистая взвесь, без комплемента и противо- сыворотки	48	86
+0,1 гомологичной антисыворотки	44	84
Взвесь + ¹ / ₂₀ комплемента, без противосывор.	46	81
+0,1 гомолог. антисывор. .	48	80
Взвесь + ¹ / ₄₀ комплемента, без сыворотки	48	87
+0,1 гомолог. антисыворот. .	50	86
Взвесь + ¹ / ₈₀ комплемента, без противосывор.	50	89
+0,1 гомолог. антисыворотки .	44	79
Взвесь + ¹ / ₁₆₀ комплемента без противосывор.	47	74
+0,1 гомолог. антисыворотки	48	80

Закключение: ни алексин сам по себе, ни он же в присутствии гомологичной антисыворотки или сыворотки анти-Salm. orig. или иммунсывороток, изготовленных при помощи штаммов других мутантов не оказывает никакого литического или бактерицидного действия на мутанта I.

ОПЫТЫ С МУТАНТОМ II.

Как это будет ясно из приводимых опытов, взятых на выборку из 20, давших одинаковые результаты, они абсолютно разнятся от того, что нами получено с исходным штаммом *Salmonella* и мутантом I. Я должен к этому добавить, что все эти 20 опытов были произведены в одно и то же время, т. е. в условиях максимально однородных с теми, при которых производились опыты с исходным штаммом *Salmonella* и мутантом I. Следовательно, не может быть никаких причин для экспериментальных ошибок.

Действие различных антисывороток на эмульсию мутанта II.

Противосыворотка	Количество колоний			
	Непосредственный высев		Высев спустя 3 часа при 37°	
	Без ком-племент.	В присутств. комплем.	Без ком-племент.	В присутств. комплем.
Без антисыворотки	400	100	1.200	610
+антисыворотка <i>Salm. orig.</i>	—	—	1.200	3
+ сыворотка против Мутанта № I	—	—	1.200	4
№ II (гом.)	—	—	1.200	0
№ III	—	—	1.200	0
№ III	—	—	1.200	0
№ III	—	—	1.200	2
№ IV	—	—	1.200	1
№ V	—	—	1.200	(чашка разбита)
№ VI	—	—	1.200	1
№ VII.	—	—	1.200	0
№ VIII	—	—	1.200	1

Опыт, показывает что гомологичная антисыворотка, равно как и иммунсыворотка, антигеном при изготовлении которой служил штам *Salm. orig.* (надобно напомнить что эта сыворотка лишена какой бы то ни было активности по отношению к своему прямому антигену, *Salm. orig.*), равно как и все остальные иммунсыворотки против всех имеющихся вариантов—проявляют бактерицидное действие, обладающее, практически, одной и той-же интенсивностью.

Но этот вывод нуждается в коррективе: из последующего опыта явствует, что для получения того-же эффекта достаточно одного алексина (комплемента), без иммунсыворотки:

Бактериальная эмульсия	Непосредств. высев	Высев спустя 3 часа при 37°
Контроль	1.500	3.500
+ Комплемент	1.500	0

Дальнейшие опыты лишний раз подтверждают это наблюдение и показывают, что одна лишь антисыворотка лишена, каковы бы то ни было лизирующего эффекта.

Бактериальная эмульсия	Непосредств. высев.	Высев спустя (время в мин.)				
		30	70	105	135	170
Контроль	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
+ 0,1 гомолог. иммунсыворотки.	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
+ 0,1 комплемента .	1.200	800	500	200	7	0
+ 0,1 иммунсыворот. + 0,1 компл.	1.200	900	500	200	0	0

Следовательно, комплемент, сам по себе, также, как и в присутствии специфической иммунсыворотки, обладает явно выраженной бактерицидностью; срок, требующийся для проявления этого бактерицидного эффекта—одинаков в обоих случаях.

Следующие опыты уточняют добытые результаты:

Бактериальная эмульсия	Количество колоний	
	Непосредств. высев.	Высев спустя 3 часа при 37°
1. Контроль (без комплемента и противосыв.)	800	—3000
2. + 0,1 гомол. иммунсыворотки	800	3000
3. + комплемент (1:20) без противосыворотки.	800	2
4. Комплемент + 0,1 иммунсыворотки	800	2
5. + Комплемент 1:40 без противосыворотки	800	1100
6. + 0,1 иммунсыворотки .	800	4
7. + 1:80 без противосыворотки	800	2000
8. + 0,1 иммунсыворотки .	800	34
9. + комплемент 1:60 без противосыворотки	800	3000
10. + „ 0,1 иммунсыворотки .	800	2000
11. + Комплемент 1:320 без противосыворотки	800	3000
12. + „ 0,1 иммунсыворотки .	800	3000

Этот опыт нам кажется чрезвычайно четким: алексин сам по себе производит энергичное бактерицидное действие: в дозе 0,1 к.с. это действие таково, что подлежащий воздействию микроб совершенно не нуждается в сенсibilизации антисывороткой. При меньших дозах, действия сенсibilизатрисы дает себя чувствовать. Мы увидим в дальнейшем, что действие сенсibilизатрисы более или менее резко выражено в прямой зависимости от свойств взятого в опыт мутанта.)

Так как было бы совершенно невозможно дать все детали опытов, осуществленных с каждым из мутантов, я укажу лишь на один, относящийся к мутанту III, т. к. он наилучше показывает относительные роли алексина и сенсibilизатрисы в явлении сывороточного лизиса. Во всех приводимых опытах, мы применяли гомологичную антисыворотку (т. е. сыворотку, изготовленную путем обработки кролика культурой соответствующего мутанта).

Действие комплемента, в присутствии или отсутствии сенсibilизатрисы, на мутанты III T, III S, III F.

Бактериальная эмульсия.	Количество колоний					
	Мутант III T		Мутант III S		Мутант III F	
	Непоср. высев	Спустя 3 часа	Непоср. высев	Спустя 3 часа	Непоср. высев	Спустя 3 часа
1. Контроль .	400	1.200	150	300	40	100
2. +0,1 иммунсыворотки .	400	1.200	150	300	46	100
3. +Комплемент ($1/_{20}$) без противос.	400	120	150	0	38	4
4. +0,1 иммунсывор. .	400	1	150	0	36	0
5. +Комплемент ($1/_{40}$) без противос.	400	300	150	62	40	18
6. +0,1 иммунсывор. .	400	8	150	60	30	5
7. Комплемент ($1/_{80}$) без противос. .	400	1.200	150	120	48	80
8. +0,1 иммунсывор. .	400	100	150	120	48	14
9. Комплемент ($1/_{160}$) без антисывор.	400	1.200	150	300	41	100
10. „ +0,1 иммунсывор. .	400	300	150	150	49	50
11. Комплемент ($1/_{320}$) без антисывор.	400	1.200	150	300	43	180
12. +0,1 иммунсывор. .	400	1.200	150	200	50	90

Из этих двух опытов мы убеждаемся в том, что алексин сам по себе производит бактерицидное действие, но это действие проявляется более или менее ярко, в зависимости от свойств того или иного мутанта. Влияние алексина чрезвычайно слабо выражено в случае мутанта IIIТ, и резко проявляется в отношении обоих других; с другой стороны, сенсibilизация усиливает в незначительной степени бактерицидное действие алексина в отношении мутанта IIIS (где действие алексина само по себе является более энергичным) в средней мере—для мутанта IIIF и чрезвычайно сильно в отношении мутанта IIIT (по отношению к которому бактерицидное действие одного алексина проявляется нерезко). Я не думаю, что было бы полезно давать примеры из опытов, касающихся мутантов IV, V, VI, VII, VIII, принимая во внимание, что все опыты дали накладываются друг на друга результаты; достаточно иметь в виду, что если существуют бактериальные штаммы, которые разрушаются под воздействием одного алексина, то есть и другие, совершенно к нему не чувствительные, даже при условиях сенсibilизации соответствующей антисывороткой. Добавлю, лишь, что мы, в целях проверить, не обладает ли сыворотка кролика своеобразными, только лишь ей присущими, свойствами, прибегали к иммунизации и других животных; так, например, мы подготовили морских свинок и констатировали, что действие полученной от них иммунсыворотки совершенно идентично действию кроличьей антисыворотки. Нами будут сделаны в конце этой главы и в главе последующей выводы из этих опытов с точки зрения учения об иммунитете.

13. МНОЖЕСТВЕННЫЕ СИМБИОЗЫ.

Из таблицы второй, помещенной в начале этой главы, можно констатировать, что многие мутанты, после того, как они претерпели полное растворение под действием исходного бактериофага, дали, по истечении различных сроков, вторичные культуры. В целях определить, какие новые варианты можно было бы получить исходя из этих вторичных культур, мы произвели посев на агар вторичной культуры мутанта IIIT. Все колонии, которые появились после инкубации, принадлежали к слизистому типу. Значит, мы являемся свидетелями возврата этого мутанта к первичному типу (мы помним, что тип IIIT является неслизистым вариантом, появившимся в слизистой культуре мутанта II, после, приблизительно, двусотого пересева).

Нами были поставлены опыты для проверки свойств бактериофагов, входящих в состав этого нового симбиоза, исходя из того

факта, что бактериофаг в симбиозе с мутантом IIIТ лишен агрессивной способности по отношению к исходному штамму *Salmonellae*, но активен по отношению к *Salm. supestifer*, тогда как исходный бактериофаг активен в отношении обеих сальмонелл. Таким образом, мы задались целью определить, произошла ли в новом симбиотическом сожительстве субституция, (подмена одного бактериофага другим) или суперпозиция (наслоение двух бактериофагов). Для проверки указанных предположений одна из слизистых колоний была перевита и изучена. Удалось установить, что оба бактериофага в ней сосуществовали. Таким образом, тут произошла суперпозиция двух бактериофагов и образование множественного симбиоза. Этот простой опыт позволяет понять, какова может быть сложность симбиозов бактерий с бактериофагами в природе, раз наслоение различных бактериофагов возможно даже в пределах одной бактериальной клетки.

В природе, бактерии ежеминутно приходят в контакт с новыми расами бактериофагов, и множественные симбиозы должны быть чрезвычайно частым явлением: в этих случаях бактерия делается „носителем“ различных фагов, причем каждый бактериофаг, наслаивающийся на предшествующий симбиоз, вызывает образование новых вариантов. Только лишь в пробирках бактериологических лабораторий—бактерии поддаются схематической классификации и остаются неизменными в своих свойствах. Но бактериофаг дает нам возможность восстановить, в рамках эксперимента, естественные условия жизни бактерий, позволяет нам изучать динамику их поведения.

Я позволю себе думать, что подобное изучение может привести нас к пересмотру целого ряда принципов, укоренившихся благодаря рутине.

Но для того, чтобы суметь дойти до такого результата, необходимо, сперва, получить точное представление о том, что есть симбиоз бактерии с бактериофагом, а единственным путем к достижению этой цели является изучение наиболее простого случая: симбиоза из двух компонентов, изложенного мною в этой главе.

14. СЛЕДСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ.

Мы ограничились изучением десяти мутантов—происходящих от одного из штаммов *Salmonellae enteritidis* (вирус Данича): множество других мутантов появилось по пути наших изысканий, но вследствие физической невозможности изучить их всех—нам пришлось их намеренно отстранить. Систематическое изучение тех

десяти мутантов, которые были сохранены, потребовало использования многих тысяч чашек Петри.

Мы считаем себя, все-же, вправе заключить, что количество мутантов, происходящих под воздействием одного бактериофага на один бактериальный штамм, не есть число бесконечное, но лишь ноопределенное. Каждый из мутантов отличается от других некоторыми свойствами. Если мы будем сравнивать между собой свойства различных мутантов, то мы убедимся в том, что каждое свойство варьирует независимо от всех остальных, т. е. представляет собой как бы автономное, независимое целое; этот факт является наиболее существенным из характерных особенностей мутантов, на наш взгляд.

Многие авторы, в том числе Гедли (Hadley) предполагают, что трансформации, претерпеваемые бактериями представляет собой отдельные стадии их жизненного цикла.

В природе существуют две причины для прерывистых вариаций: жизненный цикл (как это имеет место, например у некоторых простейших или у некоторых насекомых), который еще именуется метаморфозом, и явление мутаций; первый феномен предопределен, воспроизводится всегда в одном и том же порядке и при нем все свойства видоизменяются параллельно и одновременно; второй феномен—лишен видимого порядка, при нем каждое из свойств живого существа варьирует, как независимое целое, вне всякого параллелизма с остальными свойствами живого начала. Кроме того, количество трансформаций ограничено в первом случае и неограничено во втором.

Когда находишься перед лицом резкой вариации в свойствах живого существа, то совершенно легко дать себе отчет, к которому из двух феноменов относится наблюдаемое явление. Если направление вариации предопределено и число вариантов ограничено, дело идет о жизненном цикле, в противном же случае—мы находимся перед явлением истинной мутации.

Достаточно учесть результаты наших экспериментов, чтобы установить с непреложностью, что вариации бактерий, происходящие под воздействием бактериофага, принадлежат к явлениям порядка мутации. Опыты показывают, что мутанты-носители бактериофага, с самого начала эксперимента, заключавшегося в искусственном создании симбиоза бактерии с бактериофагом, и до конца—остались носителями бактериофага (проверка произведена 40 месяцев спустя, после свыше 400 пересевов). Эти эксперименты позволяют уяснить себе, каково происхождение и течение процесса

образования тех многочисленных бактериальных штаммов, которые мы видим в природе в виде готовых носителей фага. В одном случае, как и в другом, дело идет о симбиозе между двумя независимыми существами: бактериофагом, с одной стороны и бактерией, с другой (бактерией, бывшей, первоначально, ультрачистой, т. е. свободной от бактериофага).

В процессе симбиоза, каждый из двух сожителей приспосабливается к реакциям другого: бактериофаг, также как и бактерия, претерпевает изменение в своих свойствах. В каждом симбиозе, т. е. для каждого из мутантов, эти вариации различны; в конечном счете получается неопределенное количество мутантов, каждый из которых обладает суммой своеобразных свойств.

Salmonella orig. и 10 изученных мутантов ведут себя как самостоятельная бактериальная группа. Наши опыты, приведшие к созданию новой экспериментальной бактериальной группы, дали нам, по нашему убеждению, ключ к уразумению естественного процесса образования групп и эволюции в бактериальном царстве. Нам предстоит не явление постепенной эволюции, а мы имеем перед собой эволюцию прерывистую, скачкообразную, с мутантами, возникающими в результате симбиоза.

Изучение мутантов, вызванных к жизни силой эксперимента, приводит к результатам не менее значительным и в области учения об иммунитете.

В зависимости от направления процесса мутации, может варьировать и вирулентность ультрачистых штаммов бактерий. Мутации же являются следствием симбиоза бактерий с бактериофагом.

Из мутантов, происходящих от патогенного микроорганизма — часть полностью потеряет вирулентность, другая — сохранит ее, или приобретает повышенную вирулентность, сравнительно с исходным микробом, со всеми возможными промежуточными степенями. Характер вирулентности может меняться даже в такой мере, что мутант происходящий от бактерии, способной вызвать бурное острое заболевание, вызывает торпидную, длительную, хроническую болезнь.

Это должно, по моему мнению, служить объяснением перехода, в некоторых случаях, острых инфекционных заболеваний в хроническую форму.

Наконец, эти исследования показывают, что бактерицидное действие алексина, обнаруженное много лет тому назад Нутталем (Nuttall) и Бюхнером (Buchner), равно как и сенсibiliзирующее действие гомологичной антисыворотки, представляют собой явле-

ния более сложные, чем это казалось ранее: считалось установленным, что дело идет о феномене общего характера, при котором бактерии предоставлялась пассивная роль.

Из наших же опытов вытекает, что в означенном процессе свойства бактериальной клетки играют активную и решающую роль. „Чувствительность“ к сыворочному алексину или „нечувствительность“ к нему (независимо от предварительной сенсibilизации специфической антисывороткой) является свойством, присущим данной бактерии, и это свойство, в основе своей, чрезвычайно изменчиво. В зависимости от того, обладает ли или нет бактерия первым или вторым свойством, она или чувствительна к тому, что было названо сывороточным бактериолизом, или совершенно к тому процессу рефракторна. Приведенные результаты противоречат одной из аксиом (по нашему мнению, ошибочной), на которой базируется современная иммунология.

15. БАКТЕРИИ—ФАГОНОСИТЕЛИ.

Я позволю себе лишь высказать предположение, по поводу которого я не обладаю, в настоящее время, исчерпывающими доказательствами.

Мы уже отметили, что существуют бактериальные виды, по отношению к которым не удалось установить наличия видимой (проявляющейся) бактериофагии. К этим видам принадлежит вся группа кислотоустойчивых (палочка туберкулеза и т.д.) микробов и кокки из группы менинго-гоно-пнеймококка.

Некоторые факты позволяют предполагать, что эти микроорганизмы известны нам лишь в виде резистентных мутантов, наследственных носителей бактериофага.

Нами уже указывалось в предыдущем параграфе, что существует аспорогенный штамм мегатерия, обладающий высокой чувствительностью к лизинам, сецернируемым бактериофагными тельцами; там же приведена фотография, показывающая различное поведение, в отношении мегатерия, ультрачистых и зараженных фагом культур кишечной палочки.

Напоминаю этот опыт: на чашке с агаром проводится широкая черта посевом двадцатичетырехчасовой культуры мегатерия; чашка ставится на короткий срок в термостат для подсыхания засеянной черты. Затем, к центру черты прикасаемся кончиком платиновой иглы, предварительно зараженной агаровой культурой испытываемого микроорганизма.

Спустя восемнадцатичасовой инкубационный срок—засеянная полоса покрыта налетом роста мегатерия; если место, к которому мы прикоснулись испытуемой культурой, ничем не выделяется среди окружающего слоя мегатерия—регистрируется отрицательный результат. Но если точка, где развивалась колония, окаймлена обнаженным пояском—в результате лизиса культуры мегатерия—мы вправе заключить, что испытываемый бактериальный штамм должен содержать фага, вырабатывающего лизин.

Пнеймококки всех четырех типов дают всегда указанное явление; следовательно, не исключена возможность, что пнеймококк представляет собой мутанта, носителя бактериофага.

Г Л А В А IV.

Бактериофаг и его роль в иммунитете.

Часть I.

1. В В Е Д Е Н И Е.

Ранее всего, полагаю необходимым заявить, что я ни в какой мере не собираюсь отрицать ценности того наследия, которое нам оставлено предшествовавшими поколениями работников в виде стройного здания учения об иммунитете. Факты, открытые учеными, которые, со времен Нуттала (Nuttall), Бюхнера (Buchner), Мечникова, занимались основными вопросами иммунитета, сохраняют все свое значение; только, проблема, которую предстояло разрешить, была всеми рассматриваема, до нынешнего времени, как уравнение с двумя неизвестными (патогенный микроб и паразитированный организм животного), тогда как, на деле, задача содержит три неизвестных: третий фактор—это бактериофаг, паразит микробов. Каждый из трех факторов оказывает воздействие на двух остальных. Каковы эти взаимодействия? Что получается в результате этих интерреакций?

Вот цель, преследуемая мной в течении 15 последних лет, за время которых я исколесил мир в поисках типичных инфекционных заболеваний, т. к. лишь углубленное изучение и подробный анализ течения естественных инфекций могли привести к разрешению задач, поставленных мною себе. Оговариваюсь, что в поле моего зрения находились лишь инфекции, имевшие своими возбудителями бактерий.

Подойдем к изучению сперва того, каково действие, производимое бактериофагами на остальные два фактора: бактерию, с одной стороны и паразитированный организм, с другой—и каковы реактивные ответы по отношению к бактериофагу и со стороны бактерии, и со стороны организма.

2. БАКТЕРИОФАГИЯ.

Как мы уже излагали в предыдущей главе, основное в бактериофагии—это процесс растворения бактериальных тел, воспроизводящийся безпредельными рядами и обусловленный фильтрующимся началом корпускулярного строения, бактериофагом. Растворение бактерий сопровождается размножением бактериофажных телец. К концу литического процесса все бактерии исчезают из среды, приобретающей полную прозрачность и содержащей лишь огромное количество бактериофажных корпускулов даже в том случае, если первоначально в среду было введено лишь единственное бактериофажное тельце.

Бактериофажные корпускулы ведут к лизису бактерий не прямым своим воздействием, а при посредстве литических ферментов, которые вырабатываются ими и которых можно экспериментальным путем отделить от них. Изучение растворимых литических ферментов показывает, что их физические и физикохимические свойства отличаются от свойств самих бактериофажных корпускулов.

Отсюда следует, что бактериофажное тельце обладает способностью ассимиляции и что эта ассимиляция течет в тех же самых рамках, как и у всех остальных живых существ: бактериофаг расщепляет вещество бактериальной клетки с помощью вырабатываемого им литического фермента и использует продукты расщепления для построения своей субстанции и размножения.

Резюмируем: первым эффектом воздействия бактериофага является разрушение бактериальных тел, путем их растворения.

3. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ.

Бактериофагия может быть приравнена к инфекционному заболеванию (с той только разницей, что чувствительным организмом в этом случае будет бактериальная клетка) агентом которого является бактериофажный корпускул. У этого последнего, как впрочем и у всех паразитов, свойство вирулентности изменчиво в широких пределах. В природе существуют бактериофаги, гипервирулентные по отношению к тому или иному бактериальному виду, как есть и совершенно авирулентные; наряду с этим, существует и целый ряд промежуточных ступеней между этими двумя крайними состояниями вирулентности. У одного и того же бактериофага, вирулентность может быть экзальтирована или аттенуирована, увеличена или ослаблена, в зависимости от обстоятельств.

В случае встречи с гипервирулентными по отношению к нему бактериофагом—бактерия неизбежно погибает; если же вирулентность бактериофага меньшая, то бактерия может проявить устойчивость и приобрести истинный иммунитет по отношению к своему паразиту; в последнем случае бактериофаг, иногда, подвергается разрушению: в других же случаях бактерия заболевает хронически и тогда возникает сожительство, симбиоз бактерия—бактериофаг. Мы изучили образование и свойства этих вторичных культур в предыдущей главе.

Нами было, в той же главе, указано, что *Salmonella enteritidis*, исходная раса экспериментально полученных нами мутантов, убивает регулярно белых мышей (10 мышей из взятых в опыт десяти), в инкубационный срок от семи до четырнадцати дней, в дозе 0,01 кб. с. молодой бульонной культуры.

Из восьми же штаммов полученных мутантов—два оказались совершенно авирулентными, у трех—вирулентность резко ослаблена, а у двух—вирулентность сохранилась на первоначальной высоте или даже усилилась; наконец, один из мутантов вызывает уже не острое заболевание, но хроническую болезнь, длительностью не менее 42 дней, причем некоторые из мышей гибнут лишь через 7 месяцев и из их органов можно выделить микроба, представляющего все типичные свойства введенного штамма мутанта.

Я укажу, впрочем, что в смысле сохранения или потери вирулентности—не все виды бактерий ведут себя единообразно. Я показал, в отношении холерного вибриона, что все мутационные штаммы, носители бактериофага, являются полностью авирулентными. В отношении чумной палочки—наблюдается обратное явление: вирулентность микроорганизма—мутанта, за чрезвычайно редкими исключениями, не отличается от вирулентности ультра-чистых культур. Эта разница в поведении мутантов, в смысле сохранения ими той или иной степени вирулентности, объясняет разницу в эпидемиологическом ходе некоторых инфекционных заболеваний, например, брюшного тифа и бациллярной дизентерии, с одной стороны, и холеры, с другой.

Резюмируя, мы можем сказать, что второй акт воздействия бактериофага на бактерию заключается в возможности видоизменения, как степени, так и самого „качества“ вирулентности микроба.

4. ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИОФАГА НА АГГЛЮТИНАБЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ.

Я указал на это влияние уже в 1920 году. Мы видели из предыдущей главы, что трое из мутантов совершенно потеряли способность агглютинироваться соответствующей антисывороткой, двое

агглютинируются в титре, равном агглютинационному титру исходного штамма (полная агглютинация в разведении 1:500 специфической сывороткой анти—*Salmonella*); три мутанта резче агглютинируются, чем исходный штамм (полная агглютинация в разведении сыворотки 1:3200).

Обращаю внимание на то, что агглютинабельность специфической сывороткой и вирулентность являются совершенно независимыми друг от друга свойствами микроба: мутант I авирулентен и легко агглютинируется; мутант VII вирулентен и лишен способности агглютинироваться; VI—вирулентен и агглютинабелен.

5. ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИОФАГА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ К БАКТЕРИЦИДНОМУ ДЕЙСТВИЮ АЛЕКСИНА.

Это влияние было нами уже изучено в подробностях в предыдущей главе, мы только напомним его сущность. Общеизвестно, со времени работ Нуттала (Nuttall) и Бюхнера (Buchner), что нормальный сывороточный алексин обладает свойством разрушать некоторые патогенные бактерии. Пфейффер (Pfeiffer), Бордэ (Bordet), Эрлих (Ehrlich), затем, показали, что сыворотка иммунизированных животных содержит особое начало, сенсibilизатрису, которая, специфически фиксируясь на соответствующем микробе, усиливает его чувствительность к растворяющему (лизирующему) действию алексина.

Однако, я неоднократно указывал, что это явление не представляет той всеобщности, которую ему пытаются придать некоторые авторы. Множество бактериальных штаммов оказывается совершенно нечувствительным к действию алексина, даже после сенсibilизации специфической противосывороткой. Указанные в предыдущей главе опыты объясняют причины расхождения в результатах.

Я напомним, лишь, установленный нами факт того, что исходная раса *Salmonellae*, свободная от бактериофага и один из мутантов (следовательно, штамм—носитель бактериофага) были совершенно нечувствительны к действию алексина, как при прямом его воздействии на бактериальную эмульсию, так и после сенсibilизации бактерий сывороткой анти—*Salmonella*. Девять же остальных мутантов поддавались все, без исключения, воздействию одного только алексина (0,1 кб. с. свежей, неспецифической сыворотки кролика на 2 кб. с. бактериальной эмульсии). Действие нормального алексина лишь усиливается в присутствии специфической антисыворотки, при чем совершенно безразлично, применяем ли мы точно-

гомологичную сыворотку, или сыворотку, полученную в результате иммунизации животного любым из штаммов—мутантов.

Из этих опытов можно вывести заключение, что свойство разрушаться под воздействием алексина не является неотъемлемой принадлежностью всех бактериальных штаммов, но присуще лишь некоторым из них, испытавшим мутационное изменение под воздействием бактериофага.

В результате получается, что серологические свойства мутантов, и, в частности, способность бактерий, разрушаться под воздействием алексина при сенсibilизации специфической антисывороткой—могут быть обусловлены вмешательством бактериофага.

Здесь речь идет о прямом растворении бактериальных тел (истинном бактериолизе) под влиянием комплекса антиген-противотело, а не о реакции фиксации комплемента, где результат учитывается обходным приемом: растворяются или нет добавленные к специфической системе сенсibilизированные эритроциты. Между двумя этими явлениями существует демаркационная линия, которую как бы условились не замечать.

6. ОПСОНИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, ВЫРАБАТЫВАЮЩИХСЯ БАКТЕРИОФАГОМ.

Элиава и я установили, что литические ферменты, вырабатываемые бактериофагом, обладают мощным опсоническим действием; но эта опсоническая способность, в противоположность тому, что мы видим по отношению к бактерицидному действию алексина, может быть выявлена главным образом, в немутирующих бактериальных штаммах, т. е. на таких микробах, которые не являются носителями бактериофага.

Привожу несколько опытов, осуществленных по этому поводу.

Опсоническая сила определялась по обычной методике Райта и Дугласа (Wright and Douglas); берется смесь, состоящая на одну треть из материала, опсоническая сила которого должна быть определена (в данном случае, суспензия бактериофагных корпускулов), на $\frac{1}{3}$ из эмульсии лейкоцитов и на одну объемную треть из легкой бактериальной эмульсии интересующего нас микроба. Смесь после насасывания и перемешивания в оттянутой части Пастеровской пипетки и запаивания ее конца—погружается на четверть часа в водяную баню при 38° , а затем, из нее делаются препараты на предметных стеклах, которые, после окраски, рассматриваются под микроскопом.

В нашем опыте мы пользовались лейкоцитами морской свинки (полученными в результате центрифугирования перитонеального экссудата, вызванного впрыскиванием в брюшную полость морской свинки нескольких куб. с. мартэновского бульона), культурой *Pasteurellae bovis* (возбудителя септицемии буйволов, так называемого „барбона“) и бактериофагом, активным по отношению к этой бактерии.

Опыт А. 1. Контроль. Смесь из $\frac{1}{3}$ эмульсии лейкоцитов, $\frac{1}{3}$ взвеси *Pasteur. bovis*, $\frac{1}{3}$ стерильного бульона. После 15-ти минутного пребывания в водяной бане при 38° из содержимого пипетки изготовлены препараты—мазки, окрашены и исследованы под микроскопом.

Произведен подсчет 100 лейкоцитов; ни один из них не фагоцитировал ни одной бактерии.

2. Смесь из $\frac{1}{3}$ лейкоцитов, $\frac{1}{3}$ эмульсии, $\frac{1}{3}$ суспензии бактериофагов, имеющей 8-ми месячную давность.

100 лейкоцитов фагоцитировали 109 бактерий.

3. Тот же самый опыт, но суспензия бактериофагов разбавлена 1:250 стерильным бульоном.

Результат—100 лейкоцитов фагоцитировали 52 бактерии.

4. Смесь из $\frac{1}{3}$ лейкоцитов, $\frac{1}{3}$ эмульсии и $\frac{1}{3}$ „лизина“ бактериофага, разведенного в физиологическом растворе. Лизин получен следующим образом: взвесь бактериофагов против барбона была осаждена 19 объемами абсолютного алкоголя. 4 дня спустя, когда бактериофагные тельца были полностью разрушены (в этом мы убежились из опыта: невозможностью пассировать фага), осадок собран и 2 миллиграмма его, во влажном состоянии, взвешены в 10 куб. с. физиологического раствора.

В этом опыте 100 лейкоцитов фагоцитировали 239 бактерий. Опыт, повторенный с рядом других бактериальных видов, служит доказательством того, что опсоническое действие обязано своим происхождением не бактериофагну корпускулу, а вырабатываемому им лизину.

Опыт В. Те же самые смеси, т. е. $\frac{1}{3}$ эмульсии лейкоцитов, $\frac{1}{3}$ культуры *Pasteur. bovis* и $\frac{1}{4}$ свежей культуры бактериофага, помещаются в водяную баню при 38° ; по прохождении различных сроков, исследуется по 1 капле смеси; полученные результаты: после 30 секунд: 100 лейкоцитов фагоцитировали 30 бактерий; после $2\frac{1}{2}$ минут: 100 лейкоцитов фагоцитировали 139 бактерий; после 5 минут: 100 лейкоцитов фагоцитировали 201 бактерию; после $7\frac{1}{2}$ минут: 100 лейкоцитов фагоцитировали 271 бактерию; после 10 минут: 100 лейкоцитов фагоцитировали 260 бактерий. Ни одна бактерия не бы-

ла фагоцитирована в контрольной смеси, где бактериофаг был замещен бульоном.

В частном случае с культурой *Pasteurellae bovis* опсоническое действие лизина бактериофага является в такой степени мощным, что опсонический индекс не подлежит подсчету. Производя опыты с другими бактериальными видами, мы получили опсонический индекс, варьирующий в пределах от 20 до 42. Я напому, что в опытах Райта (Wright) сыворотка выздоравливающего, дающая индекс 2, считается уже сильно опсонизирующей.

Мы, наконец, удостоверились в том, что *Pasteurellae bovis* происшедшая от вторичных культур, т. е. устойчивая по отношению к бактериофагу, фагоцитировалась в значительно меньшей степени.

Опыт С. Смесь из $\frac{1}{3}$ эмульсии лейкоцитов, $\frac{1}{3}$ культуры бактериофага, $\frac{1}{3}$ эмульсии вторичной культуры *Past. bovis*.

Чтение результата спустя 15 минут при 38°: 100 лейкоцитов фагоцитировали 3 бактерии, т. е. действие в 90 раз более слабое, чем на ультра-чистую *Pasteur. bovis*.

Опсоническая способность культур бактериофага впоследствии была проверена и подтверждена Вейсом (Weiss), Арнольдом (Arnold), Нельсоном (Nelson), Смисом (Smith) и рядом других авторов.

Таким образом, взаимодействия между бактерией и бактериофагом в своих существенных чертах, интересующих иммунологию, сводятся к следующему:

- 1) разрушению бактерии в результате бактериофагии;
- 2) возможности образования мутирующих рас бактерий, что может вызвать в этих последних:
 - а) видоизменению вирулентности,
 - б) видоизменению агглютинабельности,
 - в) видоизменению чувствительности к действию алексина;
- 3) повышенной чувствительности бактерий к фагоцитозу, обусловленной опсоническим действием литических ферментов, вырабатываемых бактериофагом.

7. АНТИБАКТЕРИОФАГНЫЕ СЫВОРОТКИ.

Переходя к взаимодействиям, возникающим уже не между бактериями и бактериофагами, но между этими последними и живым организмом, Бордэ (Bordet) и Чиука (Ciuga) показали, что сыворотка животного, подвергшегося определенному количеству инъекций бактериофажной взвесью, приобретает свойство не разрушать самый корпускул фага (как ими сперва было опубликовано), но специфически инактивировать, тормозить литический его эффект.

Мы узнали из предыдущей главы, что антибактериофагная сыворотка представляет собой, по существу, чрезвычайно сложную смесь свойств; в ней содержатся:

1) специфический агглютинин, скучивающий бактериофагные корпускулы (Барнет—Burnet);

2) специфическая сенсibiliзатриса против бактериофагных телец (Д'Эрелль и Элиава—d'Herelle et Eliava);

3) антилизин (Ашешов и Сертич—Asheshov et Sertic).

Вопрос о том, какого рода влияние могут оказывать антибактериофагные свойства сыворотки (отмечаемые у некоторых индивидуумов) на иммунобиологические процессы, протекающие в живых организмах, привлекал до сих пор недостаточное внимание; Рэга (Raiga), однако, показал на длинном ряде экспериментов, что эти свойства оказывают существенное влияние на течение заболеваний, вызванных стафилококком и стрептококком, тормозя действие бактериофага; в свете этих опытов, предположение о том, что антибактериофагные свойства сывороток должны играть роль и при инфекциях (в особенности, имеющих хроническое течение), вызванных иными, чем указанные, микроорганизмами—кажется обоснованным.

8. ИММУНИЗАТОРНАЯ СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СУБСТАНЦИИ РАСТВОРЕННОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БАКТЕРИОФАГА.

В 1919 году мной были осуществлены многочисленные опыты вакцинации кур против тифа пернатых, при помощи культуры соответствующего бактериофага; тиф пернатых представляет собой заболевание, возбудителем которого является *Salmonella gallinarum* (b. *Sanguinarum* Klein) и которое свирепствовало в те времена во Франции в эпизоотической форме. Я не привожу этих опытов, опубликованных в моей работе под заглавием „Бактериофаг и его роль в иммунитете“, появившейся в 1921 году на французском языке и имеющейся в русском переводе.

Эти опыты касательно тифа пернатых были затем в точности воспроизведены Крамером (Kramer).

В 1920 году мной были осуществлены в Индо-Китае такие же опыты вакцинации в отношении заболевания буйволов, известного под именем барбона. Я приведу лишь вкратце течение основных опытов.

Доза культуры бактериофага (или, иначе говоря, культуры *Pasteur. bovis*, лизированной под воздействием бактериофага), выбранная для введения под кожу буйволам, имеет значительное вли-

яние на момент возникновения у них иммунитета к барбону. При дозе в 20 кб. с. животные иммунизированы спустя 40 дней; при дозе в 0,25 кб. с. иммунитет является полным спустя 20 дней.

Привожу вкратце опыт с последней дозой: 4 молодых буйволка, 12 взрослых буйволов, 25 молодых быков, в общем, 41 животное, получают под кожу $\frac{1}{4}$ кб. с. культуры бактериофага. Через различные сроки они испытываются заражением тысячей (1000) минимальных смертельных доз культуры Pasteur. bovis.

8 животных испытаны между третьим и двенадцатым днем после начала вакцинации; все 8 гибнут:—полное отсутствие иммунитета; 13 испытано между тринадцатым и семнадцатым днем пятеро выживают, 8 погибают; 20 испытаны в сроки от 21 до 60 дней после вакцинации: все они выживают, перенося свободно инъекцию тысячи минимальных смертельных доз, не представив ни общей, ни локальной реакции.

Пятеро контрольных животных погибают между 16 и 23 часами после получения инфицирующей дозы.

Наконец, последний опыт, произведенный с вакцинирующей дозой в $\frac{1}{25}$ кб. с. показывает, что, в этих условиях, прочный иммунитет возникает спустя 4 дня.

После моего отъезда из Индо-Китая мой сотрудник Ле Луэ (Le Louet) произвел опыты с дозой в $\frac{1}{4}$ кб. с. нашей вакцины и убедился в том, что животные, испытанные спустя 25 дней, несмотря на получение поверочного впрыскивания микроба—возбудителя, равного 2 тысячам минимальных смертельных доз, остались живыми, не представив никаких патологических явлений; кроме того, им же установлено, что длительность иммунитета, при избранном нами методе вакцинации, превышает 12 месяцев.

Возникший, в результате инъекции культур бактериофага, иммунитет характеризуется внезапностью своего появления и становится тотальным тотчас же после своего возникновения. Если срок наступления состояния невосприимчивости зависит от дозы введенного антигена, то возникает он всегда в порядке взрыва.

Какое начало в данном случае вызывает иммунитет? Культура бактериофага является средой, содержащей кроме самих бактериофагных телец еще и вещество растворенных бактерий, состояние дисперсности которого видоизменно под влиянием лизина, вырабатывающегося фагами. Уже а priori можно было предполагать, что в этом процессе возникновения истинного иммунитета не бактериофаги должны быть признаны прямыми виновниками, т. к. введенные в организм, они исчезают из него много ранее, чем за 20 дней

—инкубационного срока, необходимого для создания прочного иммунитета.

Опыты, осуществленные с культурами бактериофага, обработанного глицерином (убивающим за несколько дней бактериофагные тельца), показали нам, что в этом процессе живые корпускулы не играли никакой роли. Иммунизирующей субстанцией нужно считать, в данном случае, растворенное бактериальное вещество, видоизмененное лизинами бактериофага и приведенное в такое физикохимическое состояние, благодаря которому клетки организма ставятся в наилучшие условия для выработки специфического иммунитета, обладающего максимальной интенсивностью и длительностью.

В чем причина этого quasi—абсолютного иммунитета, вызванного введением животному растворенной, модифицированной под влиянием лизина бактериофага, бактериальной субстанции? Разнообразные опыты были проведены в целях пролить свет на этот вопрос!

Вот вкратце их сущность: если взять 500 кб. с. крови теленка, подвергшегося инъекции лизированной культуры, до прохождения периода, необходимого для наступления в его организме прочного иммунитета, то эта кровь, введенная интравенозно новому животному, не обусловит в нем состояния устойчивости. Если такое же количество крови взято после прохождения подготовительного срока, т. е. в тот момент, когда иммунитет уже установился, то животное, которому введена эта кровь, приобретает немедленно пассивный иммунитет огромной интенсивности, позволяющий ему переносить безболезненно введение тысяч смертельных доз культуры *pasteur. bovis*. Иммунизирующее начало, (несомненно, вырабатываемое клетками), переходит в общий круг кровообращения и может быть в нем обнаружено ¹.

Таковы различные явления, вызванные к жизни контактом бактериофага с организмом. Попробуем разобраться в том, в каком последовательном порядке они чередуются во время болезни.

¹ Необходимо установить, в какой мере бактериальная субстанция, переведенная в раствор под воздействием фага, обладает, во всех случаях, столь мощно выраженным иммунизирующим действием. Чума и брюшной тиф были бы прекрасными объектами для этих опытов, т. к., по моему убеждению, существующие методы вакцинации против этих заболеваний недействительны. Основной аргумент, выставляемый в защиту методов вакцинации убитыми культурами—это отсутствие, за время мировой войны, больших брюшнотифозных эпидемий. Этот аргумент я считаю совершенно недоказательным, т. к. одновременно с кривой брюшного тифа снижена (по сравнению с прошлыми войнами—напр. франко—германской войной 1870 года) и кривая дизентерии, которая в 1870 году давала большую смертность, чем брюшной тиф, а в последнюю мировую войну дала менее одной десятой смертности от тифа, хотя вакцинации против дизентерии не производилось вовсе!

Объяснение успешной борьбы с брюшным тифом в минувшую войну заключается в несравненно лучшем соблюдении общих гигиенических правил и в проводимом всюду хлорировании воды.

Следует сказать, что вопрос о предохранительных вакцинациях еще не подвергался обсуждению с соблюдением необходимой в таком важном деле объективности; я бы считал крайне желательным, чтобы ученые СССР подвергли этот вопрос всесторонней критике считаясь с фактами и только с фактами.

Часть II.

Бактериофаг, как фактор выздоровления.

9. ЯВЛЕНИЕ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ.

Индивидуум становится ареной инфекционного заболевания; тут возможны два исхода: гибель от инфекции или выздоровление. Во втором случае, что является причиной выздоровления? Согласно узаконившимся взглядам, ответ заключается в следующем: выздоровление объясняется тем, что больной приобрел иммунитет в отношении возбудителя заболевания. Так ли это?

При некоторых, быстро текущих заболеваниях, как например, холере, больные, которым не суждено погибнуть, обычно, становятся реконвалесцентами спустя 2 или 3 дня после первых симптомов болезни; в некоторых случаях, можно видеть больного, дающего сразу очень тяжелую картину заболевания, но затем, внезапно, через 12—15 часов после возникновения первых признаков, представляющего общее улучшение всех симптомов, ведущее к полному выздоровлению.

Возможно ли представить себе, что, в данном случае, процесс иммунизации протекает с подобной быстротой, тогда, как тысячи точных опытов показывают, что, в отношении всех тех заболеваний животных, где может быть проведена решающая экспериментальная проверка,—нужно много дней, считая от первого контакта с антигеном, для того, чтобы постепенно возникающий иммунитет стал эффективным? Другой факт еще более ярок. При целом ряде инфекционных заболеваний, за которыми следует прочный иммунитет, (напр. брюшной тиф, чума), после наступившего выздоровления возможны возвраты и эти возвраты в такой же мере, если не более, опасны, чем само первичное заболевание; по завершении периода реконвалесценции возвратов больше не наблюдается. Однако, мы знаем, что при инфекционных заболеваниях, иммунитет, раз уже

установившийся, длится долгое время и, в большинстве случаев, гарантирует от нового заболевания на весь остаток жизни.

Но анализ наших случаев показывает, что выздоравливающий не приобрел еще иммунитета к моменту возврата инфекции; следовательно, несомненно наступившее излечение от первичного заболевания не может быть обязано иммунитету, еще в тот период не существовавшему. Отсюда следует, что иммунитет становится эффективным лишь к тому моменту, когда возвраты уже становятся невозможными, т. е. приблизительно, спустя 20 дней после начала выздоровления. Иммунитет, таким образом, оказывается не причиной выздоровления, а его последствием.

Какая же причина обуславливает выздоровление?

Для того, чтобы дать себе отчет о перипетиях драмы инфекционного заболевания, нужно избрать инфекцию с быстрым течением, где исход в смерть или выздоровление наступает спустя несколько часов: чем болезнь течет быстрее, тем реакции проявляются резче, и, следовательно, легче доступны наблюдению.

Я изберу типом подобного заболевания азиатскую холеру, которую мне довелось изучить в 1927 году за время эпидемии, имевшей место в Британской Индии.

В сотрудничестве с Малоном (Malone) и Лаири (Lahiri) я обследовал 60 случаев, наблюдаемых нами или в госпитале, в Калькутте, или в деревнях Пенджаба. Результаты могут быть сведены к следующему: если бактериофаг, вирулентный по отношению к холерному вибриону, не появляется в кишечнике заболевшего в течение первых 48 часов, то больной погибает; если бактериофаг появляется, но его вирулентность слаба сначала же, а в дальнейшем еще более понижается, то болезнь затягивается и больной гибнет к тому моменту, когда активность бактериофага сводится к нулю; если бактериофаг появляется в кишечнике заболевшего и его вирулентность по отношению к вибриону растет, то больной неизменно выздоравливает и момент выздоровления совпадает с моментом, когда активность бактериофага достаточна для полного лизиса вибриона.

В тех случаях, когда активность бактериофага подвергается колебаниям, то, до тех пор, пока фаг не достигнет необходимой грани активности, состояние больного отражает параллельные колебания.

Может иметь место и четвертый случай; (я убедился на практике в том, что это—вовсе не редкое явление); в этом последнем случае бактериофаг обладает повышенной вирулентностью, в отношении вибриона, с момента первого своего контакта с ним или

предсуществует в вирулентном состоянии в китечнике; при этом соотношении сил, патогенный микроорганизм разрушается раньше, чем он имел возможность дать начало культуре, или же он лизируется в самом начале возникновения культуры. В подобных случаях, болезнь abortирует безсимптомно, и наичаще всего, индивид остается в полном неведении относительно борьбы, разыгравшейся в его организме ¹⁾.

В приводимых таблицах, касающихся азиатской холеры, кривая, отображающая тяжесть течения болезни (представленная на диаграмме сплошной линией), составлена следующим образом: каждому из основных симптомов отвечает определенный коэффициент:

Коэфф. 2—рисовидные профузные испражнения

1—от 8 до 12 рисовидн. испражн. за сутки

0,5—менее 8 рисов. испр.

1—коллапс

„ 1—анурия, длящаяся сутки

„ 2—анурия, длящаяся двое суток

3—анурия, длящаяся трое суток

0,5—удельный вес крови=1.054 до 1.056

2— 1.056 до 1.058

3— „ „ выше 1.060.

1—нитевидный пульс

2—пульс, остающийся нитевидным и на 2-ой день.

„ 0 до 2—общее состояние больного.

Следовательно, на этих кривых ежедневно отмечается наличие тех или иных симптомов и сумма всех этих коэффициентов указывает на тяжесть заболевания: 0—означает отсутствие патогномических симптомов—это есть начало выздоровления, 10—означает наличие всех симптомов; между этими крайними цифрами—болезнь будет протекать тем тяжелее, чем выше цифровой показатель.

Кривая, отображающая состояние бактериофага (представленная на диаграмме прерывистой линией), учитывает следующие данные:

Ежедневно бралась от каждого больного порция испражнений, в которых:

Мною опубликованы опыты и наблюдения, не оставляющие никакого сомнения по этому вопросу в различных работах, главным образом (в „Le Bacteriophage, son role dans l'Immunité“. В отношении холеры материалы опубликованы в „Indian Medical Research Memoirs“. Некоторые из этих опытов фигурируют в статье на русском языке, в книге, опубликованной по поводу юбилея проф. Златогорова.

1. производилось установление наличия холерных вибрионов посевом на среду Dieudonné;

2. устанавливалось наличие фага; в этих целях 1 куб. сант. испражнений эмульгировался в 9 к. с. бульона; смесь фильтровалась, сначала через бумажный фильтр, покрытый тонким слоем инфузорной земли, а затем через свечу Шамберлана L₅.

Затем, этим фильтратом, воздействовали на холерный вибрион, выделенный у самого больного, и приступали к определению активности фага, по следующей шкале:

0—отсутствие какой бы то ни было активности.

1—5—частичный лизис, более или менее резко выраженный.

6—7—полный лизис, сменяющийся ранее 24 часов вторичной волной роста.

8—полный лизис в срок от 5 до 24 часов, лизат сохраняет полную прозрачность спустя 48 часов.

9—полный лизис в срок от 3 до 5 часов; лизат прозрачен спустя 48 часов.

10—максимальная активность фага: тотальный лизис в срок меньший, чем 2 ч. 30 м.; отсутствие вторичного роста.

Следовательно, у нас имеется на каждый день болезни: 1—цифра, указывающая на состояние больного, 2—цифра, выражающая, на тот же период времени, вирулентность бактериофага по отношению к холерному вибриону, находящемуся в кишечнике заболевшего.

Из кривых, составленных на основании указанных коэффициентов, явствует следующее: в случаях 1, 16, 17, 18—отсутствие появления в кишечнике заболевших вирулентного бактериофага и быстрая гибель больных; в случаях 2, 19 и 20—отмечается появление фага слабой вирулентности, но его первичная вирулентность в дальнейшем уменьшилась и пала до нуля: и тут, после временного улучшения—наступает гибель больных; в случаях 4, 5, 9, 10, 13, 23—активность бактериофага постепенно возрастает, симптомы заболевания пошли, параллельно, на снижение и больные выздоровели; наконец, в случае 3, бактериофаг обладал максимумом вирулентности уже при первом определении его активности (произведенном спустя шесть часов после появления первых симптомов): этот больной, состояние которого казалось чрезвычайно тяжелым и грозящим смертью в ближайший срок—был, спустя 24 часа, на пути к полному выздоровлению.

Откуда возникает бактериофаг, появляющийся в кишечнике заболевших к тому моменту, когда в их состоянии наблюдается перелом к выздоровлению?

У всех больных, даже у тех, которые погибают от инфекции—можно обнаружить в кишечнике фага, вирулентного по отношению к кишечной палочке; у больных, которым предстоит выздороветь, вирулентность фага начинает нарастать, сперва, по отношению к кишечной палочке, а, в дальнейшем, появляется способность атаковать и холерного вибриона. Таким образом, появление вирулентности к холерному вибриону—есть результат приспособления к паразитизму за счет холерного вибриона нормального кишечного бактериофага, вирулентного, в обычных условиях, по отношению к *B. Coli*.

В следующем параграфе мы вернемся к этому вопросу.

Описанный мной механизм излечения не свойствен, исключительно, азиатской холере. Я ранее указал, что выздоровление наступает в результате аналогичного процесса при бацилярной дизентерии, при брюшном тифе, при геморрагической септицемии рога-того скота, при бубонной чуме, т. е. при всех острых инфекциях, изученных мной до нынешнего времени с точки зрения роли при них фага.

— Значит ли это, что процесс выздоровления идентичен при всех заболеваниях? По моему глубокому убеждению, основанному на строжайшем экспериментальном контроле—при всех острых бактериозах основной движущей причиной выздоровления является бактериофаг, но различные реакции, обзор которых мной дан в первой части этой главы, играют, каждая в отдельности, свою определенную роль и их относительное значение может вариировать. Эволюция болезни, ее исход: смерть, выздоровление, переход в хроническое состояние,—зависят от действий и противодействий, возникающих между тремя факторами, имеющимися в наличии: бактерией, бактериофагом и защитными силами организма. Процессы, протекающие при этом, могут быть схематизированы следующим образом:

1. разрушение бактерий прямой бактериофагией;
2. создание под влиянием бактериофага вторичных мутирующих культур, что может вызвать:
 - а) изменение вирулентности;
 - б) повышение чувствительности к сывороточному алексину.
3. опсоническое действие литических ферментов, секретируемых бактериофагом.
4. Возникновение в крови больного антибактериофагных свойств.

Б. появление истинного иммунитета, возникающего после подготовительного периода, длительностью не менее 20 дней, в результате реакции со стороны организма больного на воздействие бактериальной субстанции, растворенной и видоизменной под воздействием бактериофага.

Для каждого из типов инфекционных заболеваний, действующей или иной из этих реакций может стать главенствующим. Что же касается холеры или бациллярной дизентерии, то главенствующим процессом является первый и второстепенным—процесс 2а; в отношении чумы процессы: первый, 2 в и 3 играют наиболее активную роль.

Обследование нескольких случаев лobarной пневмонии указало мне на то, что при этом заболевании действие процесса № 1 равно нулю и доминирующим является процесс 2 в.

Во всяком случае, те исследования, которые мне удалось провести при самых разнообразных заболеваниях, доказывают, что акт выздоровления (по крайней мере при острых заболеваниях с быстрым течением) находится вне зависимости от процесса возникновения истинного иммунитета, а является следствием прямого воздействия бактериофага и тех реакций, которые вызваны им к жизни.

Истинный органический иммунитет есть не причина, а следствие выздоровления и это следствие также обусловлено действием бактериофага, растворяющего бактериальную субстанцию и тем самым придающего ей способность впечатлять рецепторный аппарат клеток животного организма.

10. ПРОИСХОЖДЕНИЕ БАКТЕРИОФАГА, ПРИЧИНЫ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ.

Мы вправе поставить себе вопрос: откуда возникает бактериофаг, появляющийся в критический момент наступления инфекционного заболевания? Вот, что, по этому поводу, показали бесчисленные экспериментальные наблюдения.

Всякий человек, как и всякое животное, дают приют в своем кишечнике бактериофагу, живущему в симбиозе с обычным обитателем просвета кишечника, кишечной палочкой; фаг появляется в кишечнике через несколько дней после рождения и пребывает в нем до смерти хозяина: он проникает в организм из внешней среды, так же как и бактерии нормальной кишечной флоры. Активность бактериофага не специфична: раса данного бактериофага способна атаковать, одновременно, различные бактериальные виды и может приспособиться к паразитизму на микробах, по отношению к которым она ранее была инактивна. Наблюдения над больными.

показывают, что первый этап выздоровления, заключается в резком повышении вирулентности бактериофага по отношению к своему комменсалу, кишечной палочке, а, затем, эта вирулентность распространяется, путем приспособления, на патогенного микроба. Мною эта первая фаза установлена даже при тех заболеваниях, где очаг заболевания находится вне желудочно-кишечного тракта (например, при бубонной чуме).

С другой стороны, патогенный микроб может явиться, в некоторых случаях, вирулентным мутантом, носителем бактериофага; этот бактериофаг, обычно, не производит никакого разрушительного действия на бактерию и может быть обнаружен лишь путем испытания на „детекторе“ Но, иногда, под влиянием причин, еще не выясненных, бактериофаг может резко повысить вирулентность по отношению к бактерии-фагоносителю, и вызвать взрыв активного процесса бактериофагии.

Бактериофаг, причина выздоровления, может иметь еще иное происхождение: в эпидемической среде, всякий выздоравливающий рассеивает бактериофагов со своими извержениями точно таким путем, как инфекционные зародыши рассеиваются в окружающей среде больными.

Иммунитет контагиозен точно таким же образом и контагий передается теми-же путями, как и сама болезнь, и в этом нужно искать объяснение прекращения эпидемии в естественных условиях.

В главе VI, специально посвященной этому вопросу, будут приведены, имеющие силу эксперимента, доказательства наших воззрений.

11. ПУТИ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ПРАВИЛЬНОСТИ ТЕОРИИ ИММУНИТЕТА.

Из всех теорий, которые могут быть сформулированы в целях объяснения любого природного явления, те, которые имеют отношение к иммунитету, легче других поддаются проверке, т. к. возможность проверочного опыта почти всегда в наших руках: теория антитоксического иммунитета, сформулированная Берингом (Behring) могла быть чрезвычайно быстро проверена на факте успешности сывороточного лечения болезней, вызванных микробами, вырабатывающими экзотоксины (как, например, дифтерийная и столбнячная палочки).

Так, как имеется полная возможность культивировать в лаборатории любую расу бактериофага, то, если теория выздоровления высказанная мною, правильна, — достаточно будет ввести больному

культуру селекционированного и гипервирулентного бактериофага, чтобы вызвать, искусственно, феномен природного выздоровления и избежать, таким образом, тех неудобств и той задержки во времени, которые представляет ожидание самопроизвольного наступления этого феномена. Точно также, если бактериофаг есть фактор, вызывающий исчезновение эпидемии, то будет достаточно рассеять в инфицированной среде культуры гипервирулентного бактериофага, чтобы вызвать, немедленно вслед за этим, угасание эпидемии. Мы увидим, из последующего изложения, что было сделано в этом направлении до сегодняшнего дня.

Г Л А В А V.

Экспериментально вызванное выздоровление.

1. БАЦИЛЛЯРНАЯ ДИЗЕНТЕРИЯ.

В 1918 году мною было предложено применение бактериофага, в целях экспериментального вызывания, при бациллярной дизентерии, естественного процесса выздоровления. Первые опыты были осуществлены в больнице des Enfants Malades в Париже, в отделении профессора Гутинеля (Hutinel), которому я обязан глубокой благодарностью за широкое гостеприимство в тот момент, когда моя революционная теория иммунитета, встречалась ироническими улыбками.

Четыре случая такой дизентерии, вызванной палочкой Шига—Крузе) Shiga—Kruse) были лечены приемом *per os* дозы в 2 кб. с. Шига—бактериофага ¹⁾, разбавленного в сотне кб. с. воды. Во всех четырех случаях наблюдалось быстрое (в течении ближайших 24 часов) исчезновение крови из испражнений; срок реконвалесценции был очень кратким ²⁾.

С тех пор мне довелось лечить тем же самым способом до сотни случаев бациллярной дизентерии с равноценными результатами.

Выздоровление, наступало также быстро и при других острых формах бациллярной дизентерии (вызванных палочками типа Флекснера (Flexner или Гиса Hiss); но в хронической форме, часто тянущейся месяцами, (подобное течение отмечается часто на Малайском архипелаге) успех не является правилом: бактерии, вызывающие эти формы, представляют собой мутантов (что, впрочем,

¹ Чтобы избежать повторений, я буду обозначать бактериофагов названием бактерий, против которых они действуют, с прибавлением суффикса „фаг“; Шига-фаг является бактериофагом, вирулентным по отношению к дизентерийной палочке Шига-Крузе, стафифаг-бактериофаг вирулентный по отношению к стафилококку и т. д.

² Подробности в моей уже цитированной работе, изданной в 1921 году и переведенной на русский язык.

является обычным при хронических заболеваниях), несравненно более устойчивых к действию на них бактериофага, чем „ультрачистые“ расы тех-же самых бактерий.

После публикации в 1921 году работы, в которой я давал теоретическое обоснование процессу выздоровления, вызванному бактериофагом, ряд ученых приступил к лечению бактериофагом, в частности, бациллярной дизентерии; первые из подобных опытов были проведены Да-Коста Крузом (Da Costa Cruz) в Бразилии, Дэвисоном (Davison) в Соединенных Штатах, Отто и Мунтером (Otto und Munter) в Германии, причем все они согласованно заявили об абсолютной безуспешности лечения.

Но, достаточно познакомиться с их работами, чтобы убедиться в том, что, не зная еще разнообразия свойств бактериофагов, они использовали для своих опытов чрезвычайно мало активные расы. Впрочем, их же собственные дальнейшие изыскания доказывают это вне всяких сомнений.

Да Коста Круз (Da Costa Cruz) продолжал экспериментально-лабораторное изучение бактериофага и им был опубликован ряд работ, касающихся общих свойств бактериофага. В 1923 году, убедившись в резких колебаниях вирулентности у различных рас бактериофага (на которые, впрочем, мною с самого же начала было обращено внимание), он начинает заново опыты лечения, на этот раз применяя чрезвычайно вирулентные (в отношении соответствующих бактерий) расы фагов. 24 случая бациллярной дизентерии (типа Шига-Крузе) были подвергнуты лечению введением per os 2 к. с. бактериофага. В 22 случаях кровь исчезала из испражнений самое, большое,—спустя 24 часа, а в большинстве случаев, улучшение наступало спустя 4—6 часов после приема 2-х кб. с. Шига-фага. В двух оставшихся случаях кровь появилась снова в стуле; прием бактериофага в дозе, равной дозе первого приема, вызвал окончательное выздоровление через несколько часов.

Эти результаты полностью совпадали с теми, которые были получены мной.

Затем, Институт Освальдо Круз (Instituto Oswaldo Cruz) в Рио-де-Жанейро начал изготовлять Шига-фага в большом масштабе и организовал его распределение госпиталям и врачам. Первые результаты этого нового опыта опубликованы в 1924 году. Число больных, на которых был произведен эксперимент, равняется нескольким тысячам; из этого количества—отмечено только два неуспеха.

Официальный отчет о применении фага заканчивается следующими словами: „бактериофаготерапия удивляет всех лечащих врачей резкой переменой в общем состоянии больного в течение пер-

вых-же часов после применения первой дозы и быстротой окончательного излечения. Среди излеченных больных большинство подверглось, предварительно, всевозможным лечебным воздействиям и бактериофаг был применен к ним в качестве последней терапевтической попытки. Мы абсолютно убеждены в том, что спасли жизнь большому количеству больных“.

„Противодизентерийный бактериофаг есть, вне всякого сомнения, наилучшее оружие из терапевтического арсенала против бациллярной дизентерии, из всех известных доныне. Его действие превосходит эффект всех остальных терапевтических агентов, в том числе и сыворотки, т. к. болезненные симптомы идут на резкое улучшение в срок от 4 до 8 часов после приема бактериофага и больной вступает в стадию выздоровления спустя 24—48 часов от начала лечения“.

Перейра (Pereira) указал на другое преимущество лечения бактериофагом: благодаря его применению можно избежать бациллоносительства, т. к. дизентерийные палочки не могут быть обнаружены в кишечном содержимом пациентов, леченных внутренним приемом бактериофага.

В настоящее время, лечение бактериофагом бациллярной дизентерии считается в такой степени верным терапевтическим методом, что врачи применяют его в качестве пробного камня для диагноза амёбной дизентерии; каждому дизентерийному больному дается 2 кб. с. бактериофага; спустя 12 часов—вторая доза, если первая не вызвала выздоровления, и наконец—третья спустя 12 часов после второй; если выздоровление не наступило к этому моменту, то начинается лечение эметином, т. к. предполагается что бациллярная дизентерия в этом случае является исключенной. Противодизентерийная сыворотка в Бразилии уже не применяется вовсе.

Мы уже упоминали, о том, что первые опыты в Германии, в руках Отто и Мунтера (Otto und Munter) дали неблагоприятные результаты. Спустя три года, Мунтер и Бленхейм (Munter und Blenheim), возвратившись к своим первоначальным работам, установили, что при бациллярных дизентериях детей, лечение фагом дает чрезвычайно благоприятные результаты. Третьим из экспериментаторов, Дэвисоном (Davison) не опубликовано, в дальнейшем, ни одной работы по интересующему нас вопросу.

Вот еще один факт, демонстрирующий всю важность учета свойств примененной расы бактериофага; в 1926 году, когда я был директором интернационального Санитарного Комитета в Египте, Суданское правительство просило изготовить некоторое количество бактериофага для лечения бациллярной дизентерии. Мною был изготовлен и выслан бактериофаг в количестве, достаточном для ле-

чения, приблизительно, 1.000 случаев. Несколько месяцев спустя, я получил письмо от директора медицинского управления, сообщающего, что полученные результаты „граничили с чудом“. За все время был констатирован лишь один случай неудачи, причем дело шло о ребенке, принесенном в госпиталь в агональном состоянии. Так как все эти случаи были проведены в больничных учреждениях, то наблюдение за больными могло быть тщательно организовано.

На следующий год, когда я был в Индии, где работал на азиатской холере, Суданское правительство попросило снова бывшую ранее в моем ведении Александрийскую лабораторию выслать бактериофаг. На этот раз, бактериофаг был изготовлен вновь прибывшим ассистентом, не имевшим специальных познаний в вопросе о бактериофагии: полученные терапевтические результаты равнялись нулю.

Мы не имеем возможности приводить все работы, опубликованные по поводу лечения дизентерии бактериофагом. Я закончу сообщением Шодюри и Морисона (Chaudury and Morison), потому, что оно указывает на значение этого метода в таких условиях, когда никакой другой метод лечения не может быть применен.

Директор Пастеровского Института в Ассаме (Индия), получает сведения о том, что в деревнях, расположенных в местности, далекой от всяких средств сообщения, возникла губительная эпидемия дизентерии и что здоровые аборигены в страхе бегут в джунгли. Принимая во внимание клиническую картину (частый стул, кровянистые испражнения), он приходит к заключению, что дело идет о бациллярной дизентерии. Им сделано распоряжение о немедленной отправке в пораженную местность курьера с ампулами бактериофага и указанием, как его принимать: вылить содержимое ампулы в стакан воды и выпить. Вслед за курьером посылается врач с большим количеством бактериофага.

По прибытии на место, врач находит 70 больных, среди которых многие уже приняли бактериофага, привезенного курьером. Он лечит и остальных бактериофагом. Из всего числа больных погибло только трое, среди которых два ребенка, которых врач застаёт уже в агональной стадии. Эпидемия была остановлена. Спустя две недели, в день отъезда врача, все выздоровевшие вернулись к работе, за исключением одного, т. е. слишком слабого.

Мне кажется, что в отношении бациллярной дизентерии сомнений не может быть: своевременное применение бактериофага, обладающего высокой вирулентностью, неукоснительно обуславливает выздоровление.

2. Ш П Р У:

Шпру является хронической болезнью, чрезвычайно частой в некоторых теплых странах и возбудитель которой еще не открыт, несмотря на многочисленные изыскания, производившиеся различными авторами. Следующий опыт Морисона и Мартэна (Morison and Martin) заставляет склониться к мнению, что это заболевание вызвано мутантом дизентерийной палочки. В первых опытах применения бактериофага против шпру, 23 больных получали ежедневно, в течение 3-х последовательных дней, подкожные инъекции двух кб. с. бактериофага, вирулентного как по отношению к палочке Шига, так и для типов Флекснера (Flexner) и Гисса (Hiss). Одновременно тот же самый бактериофаг применялся per os утром, натошак, разбавленный водой, в дозе 2-х кб. с. ежедневно; заглатывание бактериофага длилось до прекращения симптомов. Все 23 случая закончились выздоровлением в две недели, несмотря на то, что у некоторых из этих больных заболевание длилось до 15 лет. Я был в Лагоре, в Индии, когда Морисон сообщил мне об этом опыте. В больнице этого города я сумел провести восемь контрольных опытов, где заболевание длилось от 2 до 20 лет. 7 выздоровело в срок, меньший, чем 10 дней; единственный случай, давший неудовлетворительный результат, касался европейца, 72-х лет от роду, больного в течение 20 лет; он был в последней стадии заболевания и погиб спустя месяц.

3. ДЕТСКАЯ ДИАРРЕЯ.

В том же 1918 году я приступил к опытам лечения детской диарреи, применением бактериофага, выделенного мною из кишечного содержимого выздоравлиющего и вирулентного для атипического дизентерийного бацилла, полученного от ряда грудных детей в активном периоде заболевания. Мною было лечено 19 случаев; у девяти детей выздоровление наступило спустя несколько часов после введения бактериофага; у остальных десяти отмечается полная неудача; объяснение этой резкой разницы в действии заключается в том, что детские поносы не вызываются всегда одним и тем же специфическим микроорганизмом; в некоторых случаях, виновником является паратифозный бацилл, в других заболевание вызвано протеем (этот случай является как раз наиболее тяжелым, согласно моим наблюдениям; впрочем, значительно ранее этот факт был установлен Мечниковым); в иных случаях, выделяются микроорганизмы, принадлежащие к группе сальмонелл, наконец, в иных

(наиболее редких) получается впечатление, что возбудителем является палочка Моргана (Morgan). Так как бактериофаг проявляет свое действие только в том случае, когда он встречается с микробом, чувствительным по отношению к нему то, разумеется, применение бактериофага, активного по отношению к дизентерийной палочке, не производит никакого эффекта в тех случаях, когда заболевание вызвано возбудителем, принадлежащим к другому бактериальному виду.

Я, с тех пор, продолжаю, время от времени, возвращаться к исследованию этого заболевания, вызывающего высокую смертность среди новорожденных. Так как, практически, затруднительно обследовать бактериологически подробно каждый отдельный случай, то я прибегаю к следующему методу. Я применяю во всех случаях смесь большого количества рас бактериофагов, доведенных до максимальной степени вирулентности и активных против дизентерийной, парадизентерийной, паратифозной, парацищечной, синегнойной палочек, протей и энтерококка. Эта смесь дается в дозе 2-х кб. с., разбавленных несколькими кб. с. воды, через каждые два часа; совершенно излишне продолжать лечение в случае, если выздоровление не наступило после 24-х часов, т. к. в таком случае очевидно, что смесь не содержит бактериофага, активного в отношении возбудителя данного заболевания. При применении смеси различных бактериофагов, выздоровление наблюдается приблизительно в $\frac{9}{10}$ -х всех случаев. Я надеюсь, улучшить статистику, в будущем, добавлением новых рас бактериофагов, в целях повышения мультивалентности смеси.

Процент выздоровления, во всяком случае, достаточен, для того, чтобы узаконить применение этого метода при всех случаях детских летних поносов, тем более, что оно не подвергает никакому риску ребенка: если примененная смесь содержит бактериофага, активного в отношении болезнетворного зародыша, то наступает выздоровление, а если нет, то действие лекарства равносильно тому, что может получиться от заглатывания ребенком нескольких кб. с. стерильного бульона. Тот же самый бактериофаг может быть применен, с таким же успехом, при диарреях невыясненной природы и у взрослого.

4. ЗАБОЛЕВАНИЕ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ.

Я буду иметь здесь ввиду, главным образом, заболевания мочевых путей, вызванных микробами, принадлежащими к группе бактерий с неясно установленными видовыми границами, которые

объединяются обычно под родовым названием *b. coli*¹), что является наиболее частым случаем.

Известно, что, с серологической точки зрения, каждый штамм *b. coli* имеет независимую антигенную функцию: сыворотка кролика, полученная в результате обработки его определенным штаммом кишечной палочки, будет содержать противотела, специфические только для этого штамма. Причина этой крайней изменчивости объясняется, по моему, следующим: нормальным местом пребывания *b. coli* является просвет кишечника человека и животных, и тут он находится в постоянном контакте и непрестанном конфликте с бактериофагом, который также является нормальным гостем кишечника; и один и другой входят во множественные и повторные симбиозы, следствием которых является резкая вариабельность (как результат взаимного приспособления) обоих начал.

В отношении бактериофага-группа кишечной палочки является наиболее гетерогенной (что также вытекает, как следствие, из повторных симбиозов). Мы видели, что группа наших 10-ти мутантов, после 400, всего, пересевов, оказалась уже гетерогенной: т. е., каждый из них вел себя совершенно своеобразно по отношению к бактериофагу. Среди-же кишечных палочек, выделяемых в природе, для которых количество симбиотических сочетаний неограничено — различие в свойствах штаммов может быть еще большим. Раса бактериофага, обладающего максимумом вирулентности для определенного штамма дизентерийной палочки Шига, как правило — активна и по отношению ко всем остальным штаммам; среди этих бактериофагов многие, одновременно, активны и по отношению к дизентерийным палочкам других типов; дизентерийные палочки представляют собой, таким образом, чрезвычайно гомогенную группу по отношению к бактериофагу.

Но группа *b. coli* представляет совершенно иную картину. Множество рас бактериофага атакует лишь один Штамм *b. coli*, другие атакуют два-три, 10—20, а некоторые и еще большее количество штаммов. В результате долгих поисков в моей лаборатории и выделения многих тысяч рас, удалось произвести первоначальную селекцию из двухсот, приблизительно, рас, обладавших высокой вирулентностью; затем, среди этих рас была произведена вторая селекция, для отбора тех рас, действие которых распространялось на большое количество штаммов, для того, чтобы

¹ Ясно, что если заболевание мочевых путей вызвано стафилококком, то следует применять стафифага; если мы имеем дело со смешанной инфекцией, то нужно применять смесь колифага и стафифага.

притти в конечной счете к обладанию десятком штаммов, смесь которых обладает активностью, простирающейся на почти все штаммы *b. coli*, выделяющиеся при острых заболеваниях мочевыводящих путей. Что же касается штаммов *b. coli*, которых можно изолировать из хронических случаев, то их чувствительность варьирует, как правило, параллельно с давностью случаев; от которых они были выделены. При заболеваниях, длящихся несколько месяцев, 80—100% штаммов чувствительны к смеси бактериофагов, о которых я только что говорил. Чем более застарелым, является случай, тем резче эта пропорция уменьшается; в очень старых случаях, длящихся 15 лет и более, обнаружение чувствительных к бактериофагу кишечных палочек в моче—является чрезвычайным редким обстоятельством. Впрочем, в этих застарелых случаях мы имеем дело не с единым штаммом *b. coli*, но со смесью различных мутантов, и эти мутанты могут вариировать от одного исследования к другому. Из всего этого можно извлечь заключение, что острые случаи сравнительно легко поддаются лечению; тут, практически, выздоровление является правилом. В хронических же случаях—процент успешности терапии зависит от давности заболевания. В чрезвычайно старых, затянувшихся случаях излечение получается в порядке исключения. Но следует и тут производить пробную бактериофаготерапию, т. к. и я, и многие другие исследователи наталкивались на случаи, длившиеся от 5 до 10 лет, и которые были окончательно излечены фагом за 48 часов. Совершенно лишено смысла продолжать применение бактериофага при наличии в патологическом материале *b. coli*, не поддающегося литическому воздействию фага *in vitro*; если выздоровление не наступило после двухнедельного лечения, то совершенно безнадежно проявлять настойчивость в этом направлении.

Многие авторы настаивают на необходимости применять во время лечения заболеваний, вызванных *b. coli*, лишь „аутобактериофага“ (что, впрочем, является порочным термином). Ауто-бактериофаг изготавливается следующим образом: изолируется *b. coli* из мочи больного и отыскивается, среди имеющихся в лабораторной коллекции рас, или в пробах сточных вод,—бактериофаг, активный по отношению к данной кишечной палочке; когда его обнаруживают, то с его помощью вызывается лизис *in vitro* соответствующей культуры *b. coli*; для лечения применяется просветлившийся лизат, профильтрованный через свечу. Теоретически — этот метод хорош и даже кажется совершенным; естественно рождается убеждение, что подобный „аутобактериофаг“ должен быть предпочтен сток-бактериофагу, изготовленному из смеси нескольких рас бактерио-

фага, заранее подобранных и лаборатории. Но искателю, много лет практически поработавшему над над бактериофагией, известно, с какими трудностями можно добиться получения рас бактериофага, обладающих максимумом вирулентности; если вспомнить, что для того, чтобы добиться этого результата, нужно произвести сотни опытов первичного выделения фагов, то становится ясным, что только по счастливой случайности можно натолкнуться на ауто-бактериофага, который был бы в такой же мере активен, как и сток-бактериофаг, полученный путем, указанным мной выше, т. е. селекцией рас, наиболее вирулентных и наиболее мультивалентных среди многих тысяч выделенных. Что же касается застарелых случаев, где возбудители являются устойчивыми по отношению к действию на них „сток-бактериофагов“, то надежда на выделение в этих случаях активного аутофага является иллюзорной. Привожу пример: я очень интересовался одним пожилым больным, страдавшим в течении многих лет болезнью мочевых путей, вызванной *b. coli*; я просил моих ассистентов, чтобы каждый раз, когда им удавалось выделение новой расы колифага, они бы испытывали ее действие на 3-х вариантах *b. coli*, выделенных из мочи этого больного.

Подобный контроль производился тщательнейшим образом еженедельно в течении 18-ти месяцев и нам удалось натолкнуться лишь на единственную расу бактериофага, активную по отношению к одному из вариантов *b. coli*; не оказалось и ни одного, который обладал бы активностью по отношению к другим двум. Читатель мог найти это отступление несколько длинным, но мне кажется, что подобная иллюстрация не является излишней для полного понимания всех трудностей лечения бактериофагом хронических заболеваний, вызванных не только кишечной палочкой, но всякими иными микробами, т. к. все они обусловлены мутантами, т. е. микробами, находящимися в симбиозе с бактериофагом и, следовательно, устойчивыми по отношению к его растворяющему действию.

Как применять бактериофага против кишечной палочки?

Во всем том, что касается терапевтического применения бактериофага, нужно придерживаться следующего правила: вводить бактериофага таким образом, чтобы реализовать возможно быстрый и возможно интимный контакт с бактериями, подлежащими разрушению.

При обычных циститах—рекомендуется вводить в пузырь 20 куб. с. коли-фага, разведенного в 80 куб. с. кипяченой и охлажденной до температуры в 38° воды. Излишне напоминать, что никогда

нельзя разводить бактериофага в горячей воде, ибо он при нагревании разрушается.

При пиелитах, пиело-нефритах—вводить непосредственно бактериофага против коли в неразведенном виде в почечную лоханку в количестве, достаточном, чтобы ее заполнить и вызвать легкое напряжение стенок (нескольких куб. сант. для этой цели достаточно).

Случается довольно часто в человеческой практике, что спустя несколько часов после инстилляций—получается стерильность мочи, но через несколько дней констатируется реинфекция.

У некоторых больных, я наблюдал, таким образом, четырехкратную стерилизацию мочи после каждой инстилляций, а затем, спустя несколько дней, наступала снова реинфекция. В этих случаях, исследование показывало наличие простатического очага, исходя из которого возникала реинфекция пузыря. В подобных случаях, не существует никакого другого способа (исключая, разумеется, хирургического вмешательства), как только прибегнуть к интравенозной инъекции, следуя технике, которую мы укажем при изложении вопроса о терапии септицемических состояний.

Установлено, что процесс бактериофагии протекает хуже в средах, обладающих кислой или даже слабо-кислой реакцией. Поэтому, рекомендуется за четыре или пять дней до начала лечения, принимать во внутрь двууглекислую соду в количестве, достаточном для подщелочения мочи, т. е. от 5 до 10 грамм ежедневно.

Я рекомендую, помимо местного лечения, произвести одну подкожную прививку коли-фага, в количестве кубического сантиметра, одновременно с первым местным введением фага. Я настаиваю на том, что в острых случаях успех является правилом: в огромном большинстве случаев, на следующий же день после первой инстилляций моча не содержит кишечной палочки (при условии, разумеется, что примененный коли-фаг был вирулентен по отношению к имеющейся в моче больного кишечной палочке); в хронических случаях шансы успеха находятся в обратном соотношении с длительностью случая; мало надежды рассчитывать на стерилизацию при заболеваниях длящихся в течении многих лет, хотя не исключена возможность успеха и в этих случаях. Мною отмечен случай излечения женщины, болевшей в течении 6-ти лет, моча которой оказалась стерильной, спустя 24 часа после однократной инстилляций; больная была исследована специалистом несколько месяцев спустя и признана совершенно выздоровевшей. Различными

авторами приводятся случаи подобного выздоровления даже при более тяжелых заболеваниях.

Я полагаю, что нужно обратить внимание на неправильность пути, обычно избираемого многими из врачей: они начинают с применения всех известных методов лечения и только лишь в том случае, когда истощился весь терапевтический арсенал—прибегают к бактериофагу. Такого рода практику нельзя признать логичной: успех тем более вероятен, чем случай свежее; следовательно, нужно, не теряя времени, начинать с применения бактериофага; в недельный срок, вопрос можно считать выясненным: или врачу удалось добиться выздоровления—или эффект применения бактериофага равен нулю, и тогда нет никакого интереса настаивать на лечении им и можно переходить к иным терапевтическим воздействиям.

Баккерих (Beckerich) и Одюруа (Hauduroy) в 1922 г. впервые применили бактериофага к лечению заболеваний мочевых путей. С тех пор, этот метод вошел в текущую практику многих стран и рассматривается всеми теми, которые его использовали, как наиболее действительное из всех средств терапевтического арсенала, в соответствующей области. Таковы заключения не менее, чем сотни оригинальных работ, опубликованных на различных языках урологами, поделившимися результатами своего лечения.

Я не хочу удлинять этого параграфа подробным перечнем наблюдений леченных больных. Эта глава имеет целью лишь показать, что теория выздоровления, вызванного бактериофагом, оправдывается наблюдениями и в этом случае; я не считаю, что лечение заболеваний мочевых путей является блестящей иллюстрацией терапевтического могущества бактериофага, принимая во внимание многочисленные случаи безуспешного лечения при хроническом течении означенных заболеваний; я указал на эти болезни только для того, чтобы читатель знал все то, что сделано до сих пор в области бактериофаготерапии и чтобы побудить врачей испытать этот абсолютно безвредный способ лечения. Я лишь приведу выводы работы Курку (Courcoux), Филибера (Philibert) и Кордэ (Corday), в которой они излагают результаты, полученные в парижских больницах.

„Инфекции, вызванные кишечной палочкой, в частности септицемия и пиелонефрит—излечиваются или улучшаются в своем течении антиколибацилярным бактериофагом. Выздоровление, во всех тех случаях, которые нами наблюдаются, наступало спустя 24 или 48 часов и выражалось в просветлении мочи, прекращении болей, исчезновении задержки мочеиспускания, обратном развитии отека по-

чек, падении температуры и наступлении общей эйфории. Падение температуры имеет место или критически или литически и сопровождается диафоретическим кризисом“.

„Все случаи коли-бациллурии подлежат терапии бактериофаги, независимо от того, что вызвало пиэлонефрит: беременность, калькулез, ¹ энтерит или бактериэмия.

Часто встречаются коли-бациллурии, ассоциированные или возникающие как последствие кишечных расстройств—у табетиков, у больных с расстройством кишечника и оказывается, что состояние кишечника у этих больных также улучшается благодаря лечению бактериофагом.

5. Х О Л Е Ц И С Т И Т Ы.

Другой тип залоевания, часто обусловленного колибациллом—это холециститы. Впервые я применил при лечении этой болезни бактериофага в 1922 году. Дело казалось следующего случая. Женщина 32-х лет лежала в госпитале с диагнозом холецистита в продолжении 6 месяцев; состояние ее, крайне тяжелое, заставило опасаться летального исхода в непосредственном будущем: постоянная температура, колеблющаяся вокруг 39°, истощение, резкая слабость. Все способы лечения были испробованы, в том числе вакцинотерапия. В последнюю очередь подумали о бактериофаге. Мною была изготовлена культура коли-фага, выращенная за счет кишечной палочки, выделенной от больной (из сока двенадцатиперстной кишки, извлеченного дуоденальным зондом); больной, реагиравшей чрезвычайно бурной общей реакцией с гипертермией было инъецировано, подкожно, 2 кб. с. фага; спустя 11 часов—температура снизилась до 36°, при ознобе и проливном поте; 24 часа спустя после инъекции температура дошла до нормы и, в дальнейшем, осталась на нормальных цифрах. Больная выписана из больницы 11 дней спустя в прекрасном состоянии; с этих пор она не испытывала ни одного приступа заболевания; таким образом удалось добиться тотальной стерилизации ее желчного пузыря за несколько часов. С тех пор этот метод был применен рядом врачей, опубликовавших свои результаты.

Ясно, что в случае холецистита, вызванного другими микробами, необходимо вводить бактериофага, активного против соответствующих микробов (тифозных, паратифозных или дизентерийных бацилл; микрофлору следует проверить предварительно дуоденальным тубажем).

¹ Разумеется, всякому ясно, что бактериофаг не может привести к исчезновению уже организовавшегося мочевого камня.

В настоящее время, я предпочитаю подкожной инъекции интравенозное введение бактериофага т. к. литические корпускулы вернее достигают инфекционного очага.

6. ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ СТАФИЛОКОККОМ.

Я останавлиюсь несколько подробнее на лечении бактериофагом различных заболеваний, вызванных стафилококками, имея в виду то, что многие из лечащих врачей смогут прочесть эту книгу и что случаи лечения различных стафиломикозов могут представиться ежедневно; я постараюсь дать все имеющиеся в моем распоряжении указания к возможно целесообразному применению этого способа лечения.

Стафилококк является болезнетворным микробом, вызывающим разнообразнейшие заболевания, начиная от простого доброкачественного фурункула и кончая септициемией, почти всегда смертельной.

Раньше, чем входить в подробности лечения бактериофагом различных видов стафилококций, я должен коснуться вопроса, который представляет такой же большой практический интерес, как и интерес теоретический. Читатель, в одной из предыдущих глав, убедился в том, что сыворотка животного, получившего серию инъекций бактериофага, приобретает способность тормозить действие этого фага. Подобная сыворотка содержит агглютинины и сенситизатриссу, специфических по отношению к бактериофагным корпускулам, а также антилизин, нейтрализующий действие бактериофагового лизина. Однако, надо иметь в виду, что антистафилофагные свойства встречаются и в сыворотках некоторых, необработанных искусственно, индивидуумов; подобные случаи встречаются, чаще всего, у субъектов, страдающих одним из видов хронических стафиломикозов, как например, рецидивирующий фурункулез или остеомиелит. Антибактериофагные свойства сывороток этих индивидуумов, однако, значительно меньше выражены, чем антилитические способности антибактериофагных экспериментальных сывороток; при этих последних, торможение действия бактериофага имеет место при разведениях 1:3000 и даже 1:10000, тогда как естественная антибактериофагная сыворотка тормозит обычно лишь в разведениях 1:4 или 1:16 (изредка, в разведениях до 1:64).

Насколько явствует из опытов, произведенных мной, совместно с Рэктиным (Rakietien), бактериофаг, приобретший устойчивость по отношению к экспериментальной антибактериофагной сыворотке, является нечувствительным и по отношению к действию природной антибактериофагной сыворотки, обладающей максимальным.

тормозящим титром 1:64 (титр установлен в отношении неадаптированного фага)¹.

Но вот что кажется еще более необычным. Природные антибактериофагные сыворотки не только тормозят действие стафилофага, но обладают такими же задерживающими свойствами и в отношении стрептофага; Рэга (Raiga) констатировал неоднократно, что антистрептофагные свойства сыворотки бывали часто причиной неудач лечения при стафиломикозах. Какое можно найти объяснение этому явлению?

Я указал, еще в 1926 году, что мною получена *in vitro*, под влиянием действия бактериофага, мутация стафилококка; мутант представлял все свойства стрептококка типа *viridans*. С тех пор этот феномен мною наблюдался многократно, так же, как и обратное явление, т. е. мутация стрептококка в стафилококка; наичаще всего, исходным штаммом являлся стрептококк, изолированный у больного, пораженного инфекционным эндокардитом. Эти мутации являются обратимыми (наблюдается возврат к первоначальной форме после некоторого числа пересевов) или же необратимыми.

Я позволю себе повторить, на этот раз, с большим числом аргументов, чем те, которым я располагал в 1926 году, мою мысль о том, что „эти наблюдения внушают следующее предположение: не являются ли стрептококки микробными формами, получающимися в результате необратимой мутации стафилококков, мутации, происходящей под воздействием бактериофага?“.

Множество клиницистов указывало на то, что поздние артриты, осложняющие острый остеомиелит, часто оказываются стрептококкового происхождения. Так, Рэга (Raiga) наблюдал случай, при котором *streptococcus viridans* был изолирован в чистой культуре из гноя, извлеченного троакаром из сочленения; подобное исследование было произведено двукратно, с идентичными результатами. Но, после ряда пересевов на обычном скошенном агаре—автор наблюдал проявление, в культурах выделенного стрептококка, типичных колоний золотистого стафилококка. Воспаление суставов у этого остеомиелитика, значит, было вызвано мутационной формой, неотличимой от *streptococcus viridans*, но с той разницей, что возврат в.

¹ Стафилофаг, после прогрессивного приспособления к иммунсыворотке, обладавшей начальным титром 1:3.200, в результате приспособления, переносит концентрацию той-же сыворотки в разведении 1:10. Этот, приспособившийся к „антилизину“ фаг, разумеется, сумеет беспрепятственно проявить свое растворяющее действие и в цельной антистафилофагной природной сыворотке, титр который никогда не превышает разведения в 1:64.

стафилококковой первичной форме был возможен после ряда последовательных пересевов на агаре. Рага (Raiga) проследил в естественных условиях *in vivo* тот феномен, который мной был получен в порядке эксперимента *in vitro*.

Таким образом, находится объяснение тому, что антистафилофагные и антистрептофагные свойства обычно встречаются в одной и той-же сыворотке и что их совместное наличие в крови больного отягощает прогноз. Я сошлюсь на Рага (Raiga): „Наконец, эта обратимая мутация стафилококка приносит дополнительное доказательство в пользу родственности, которую представляют оба эти микроба с точки зрения антифагов. Начиная с первого года (1928), изучения много способов терапевтического применения бактериофага, я был поражен значительностью роли, которую играют антибактериофагные свойства сыворотки в течении соответствующих инфекций; в особенности поражала, частота антистрептофага при тяжелых или рецидивирующих стафиломикозах. Этим объясняется, что я мог утверждать в первых моих работах, касающихся лечения фурункулов и карбункулов бактериофагом, что антистафилофаг не является единственно ответственным за все эти полные или относительные неудачи. Антистрептофаг играет, согласно нашим воззрениям значительную роль при фурункулезе, может быть, более значительную, чем антистафилофаг. Мой первоначальный опыт позволил мне следующим образом резюмировать мое убеждение:—действие бактериофага тем полнее сводится к нулю, чем резче выражена ассоциация антистрептофага с антистафилофагом.

С тех пор я не изменил своего мнения; наоборот, мои убеждения укрепились в результате множества наблюдений, которые собраны мною и которые выражаются в цифре 2.330 до сегодняшнего дня“.

„Фурункулез, изучаемый в свете антибактериофагных сывороточных реакций, представляется как инфекция, имеющая две, по существу, отличные формы, в зависимости от того, находится в крови больного антистрептофаг или нет; во втором случае мы имеем дело с последовательными заражениями здорового организма; первый-же случай нам кажется более интересным: он представляет собой инфекцию, которая, также, как и хронический остеомиелит, характеризуется тянущимся длительным течением; оживляющимся более или менее частыми острыми вспышками; она обуславливается наличием в органической среде антистрептофагов, ассоциированных или нет с антистафилофагами. Мне пришлось убедиться в том, что антистрептофаг представляет собой „антифага стафилококковых рецидивов“; я знаю, что многие удивятся вовлечению в игру реакций при фурункулезе—стрептококка, т. к. согласно классическим воззрениям,

принято рассматривать стрептококк и стафилококк, как микроорганизмы резко отличающиеся друг от друга. Но мои наблюдения приводят к допущению, что существует органическая почва, благоприятная для развития инфекций, почва, способствующая размножению микробов, и, в то же самое время, не благоприятствующая самопроизвольному излечению, а значит, эти самым противоборствующая искусственно вызванной бактериофагии, если только не вызывать видоизменения этого органического субстрата правильным применением аутогемотерапии“.

Я процитировал весь этот абзац из последнего труда д-ра Рэга (Raiga), т. к. он проливает новый свет на патологию различных проявлений стафиломикозов. Рэга доказал, что можно, путем аутогемотерапии, нейтрализовать антибактериофагные свойства крови и широко применил этот метод в течении последних пяти лет.

Привожу применяемую им методику: стерилизованным шприцем берется из вены самого пациента не менее двадцати куб. сант. крови; это количество, незамедлительно, вводится в толщу ягодичной мышцы; подобная процедура делается троекратно, с трехдневными интервалами между операциями.

Лечение бактериофагом начинается на третий день после третьей (и последней) инъекции крови.

Тормозящее действие анти-фагов проявляется лишь у небольшого процента больных острыми стафиломикозами; следовательно, нет никаких указаний к тому, чтобы каждый случай фаготерапии начинать аутогемотерапией; нейтрализацию тормозящих лизис свойств крови нужно применять только в случае неуспеха бактериофагостерапии.

Но предварительная аутогемотерапия дает замечательные результаты в хронических случаях (особенно при остеомиелитах) где антифаги, обычно, успевают накопиться в крови.

За последние годы, с целью отвести, с помощью более простого способа, угрозу нейтрализации литического действия фага антифагными свойствами крови, мы с Рэктиным (Rakietien) рекомендуем применять, при лечении всех стафиломикозов, специальные расы стафифага, предварительно приспособленные к антибактериофагным свойствам сыворотки и приобретшие, по отношению к ним, нечувствительность. Применение, на практике, подобных рас—позволит клиницисту не считаться с антилитическими свойствами крови.

Я нахожу уместным остановиться на возражении, сформулированном против стафилофаготерапии, а именно:—что нормальная сыворотка нейтрализует литический эффект стафилофага.

Мною давно уже указано на реальность существования подобного факта, но он имеет место, исключительно, в случае слабоактивного бактериофага; расы с резко выраженной антибактериальной вирулентностью (единственные, которые мы вправе применять для терапевтических целей) совершенно нечувствительны к тормозящему лизис свойству нормальных сывороток.

Ввиду упорства некоторых оппонентов, мною, совместно с Ракетиным (Rakietien), были наново изучены взаимодействия между сыворотками и фагами и установлено с полной ясностью, что нет и следа торможения лизиса нормальными сыворотками по отношению к бактериофагам, обладающим высокой степенью вирулентности.

Авторы, констатирующие нейтрализующую способность сывороток—работали с фагами слабой активности, применение которых с лечебными целями—недопустимо.

Было-бы, впрочем, желательно, чтобы авторы, работающие с бактериофагом, указывали-бы на степень антибактериальной активности, вирулентности применявшихся в их опытах фагов; для этого достаточно указать время, потребное для удвоения количества бактериофажных корпускулов при 37°; такое простое указание позволило-бы избежать праздных споров.

Детальный обзор всех работ, касающихся фаготерапии при стафиломикоз занял-бы у нас слишком много времени: этому вопросу посвящено свыше 200 работ, единогласно приводящих к заключению, что лечение стафилофагом является, по своим результатам, наилучшим терапевтическим приемом из известных по сей день.

Я ограничусь ссылками на работы Рэга (Raiga), который, по количеству проведенных им случаев за последние пять лет и полученным им результатам—является наиболее компетентным из хирургов, специализировавшихся на применении бактериофага при хирургических заболеваниях.

1. ФУРУНКУЛЫ И КАРБУНКУЛЫ.

Впервые предложили применять, при фурункулах, фаготерапию—Брюног и Мэзен (Bruinoghues et Maisin).

Я укажу на методику, применяемую ныне Рэга (Raiga), как отвечающую наилучшим образом высказанному мной пожеланию, чтобы „вводить бактериофага в организм способом, обеспечивающим возможно полный и интимный контакт между корпускулами фага и патогенными бактериями“.

Цитирую Рэга: „необходимо вводить бактериофага в самый болезненный очаг; повторяю, в самый очаг, а не в его окружность, где воспалительная реакция обусловила отечную индурацию, чрезвычайно чувствительную к малейшему давлению.

Инокуляция в краевые области, помимо резкой болезненности, была бы и неэффективной, т. к. не достигла бы основного очага размножения болезнетворных зародышей. Из этих соображений, я ввожу фага *in situ* с помощью притупленных канюль разнообразной формы, с целью пропитать центральную часть воспалительного очага бактериофагом, избегая риска проникновения в периферическую зону.

„Для того, чтобы инстиллировать бактериофаг, необходимо-ли, или, вернее, полезно-ли вскрыть воспалительный очаг при помощи термокаутера или ножа? Я полагаю, что хирургическое вмешательство при ограниченных поражениях, даже обширных—абсолютно бесполезно; огонь и железо, в этих случаях, произведут лишь дополнительные анатомические повреждения, без всякой выгоды для больного, ни непосредственной, ни могущей возникнуть в дальнейшем.

Изучение многочисленных, проведенных мной, случаев, показало, что существует единственное исключение из правила: это—диффузный карбункул: нет материальной возможности обеспечить, при нем, тотальное пропитывание фагом пораженных тканей; при этих карбункулах—я делаю надрез, с целью обеспечить контакт между фагом и воспалительным очагом, но мне никогда не пришлось прибегнуть к иссечению сфацелированных тканей после крестообразного разреза—операции, заживление последствий которой требует не недель, а, иногда, ряда месяцев.

Простое, рекомендуемое мной, *débridement* мне кажется тем более полезным, что, при диффузных карбункулах, больные, почти всегда, являются носителями антифагов в крови, тормозящих действие фага.

Не объясняется-ли экстензивное распространение воспаления в этих случаях, наличием в крови резко-выраженных антибактериофагных свойств? Я полагаю, что эта гипотеза чрезвычайно правдоподобна“.

Количество вводимого фага находится в зависимости от размеров патологического фокуса; в случае нужды инстиляция повторяется и в последующие дни.

Полученные результаты, по данным Рэга (Raiga), сводятся к следующему:

„Применение бактериофага вызвало исчезновение очаговых болей при фурункулах и карбункулах в 55% за 24 часа и в 12%—за 48 часов; наличие антифагов удлиняет этот срок, точно также, как оно задерживает наступление окончательного излечения. Срок выздоровления я считаю с момента полного закрытия и заживления раны; что же касается исчезновения нагноения, т. е. так называемого, „бактериологического выздоровления“, то я за свою практику не имел случая, где-бы этот эффект не был достигнут не позже 15—17 дня, даже для наиболее тяжелых форм карбункулов (карбункул, занимавший всю затылочную область, от одного сосцевидного отростка до другого).

Как, под влиянием введенного *in situ* фага, эволюирует воспалительный очаг? Мы наблюдаем тут три модальности, иногда, резко дифференцированные, а иногда сочетающиеся: расплавление очага, тотальное отторжение стержня и рассасывание очага без нагноения¹.

Действие бактериофага может сопровождаться более или менее значительным повышением температуры, в особенности, при наличии разлитых очагов.

Подъем температурной кривой является прямым доказательством литической деятельности фага: он обусловлен всасыванием растворимых продуктов бактериофагии.

Последствием этого временного подъема температуры является исчезновению постоянной температуры в тех случаях, когда она имела до терапевтического вмешательства.

По стерилизации воспалительного очага—выздоровление наступает незамедлительно, т. к. никакой потери тканей наше вмешательство не вызвало. Благодаря бактериофагу—60% фурункулов излечиваются в срок, меньшей чем пять дней и более 84% исчезают за неделю.

Что касается карбункулов, то 38% из них заживают в семидневный срок и от 66% до 80% требуют для своего заживления от 12 до 17 дней.

„Есть карбункулы, которые благодаря своей локализации имеют чрезвычайно тяжелое течение и при которых жизнь больного находится в опасности: это карбункулы лица и в особенности верхней губы. Из 24-х тяжелых карбункулов, расположенных на губах, на щеках, на подбородке или внутри носовой полости, которые мне пришлось лечить бактериофагом, я наблюдал лишь в одном случае

¹) Рассасывание без наличия нагноения характерно для фурункулов и карбункулов, с первых-же дней леченных бактериофагом.

летальный исход, наступивший через 48 часов после начала лечения бактериофагом, лечения, оставшегося без результата. Мы имели дело с поражением занимавшим всю поверхность и толщу носа и верхней губы у диабетички, выделявшей 80 грамм сахара в день и только что оправившейся от столбняка, излеченного серотерапией. Среди этих двадцати трех случаев—для излечения трех понадобилось от 12 до 14 дней, а в остальных 20-ти случаях—полное излечение наступило в срок меньший, чем 8 дней. Распространение инфекции на лицевую вену и, в одном случае, флебит кавернозного синуса не сумели оказать противодействия лечебному эффекту бактериофага.

Я не думаю, чтобы какойнибудь другой способ терапевтического или хирургического воздействия дал бы такой высокий процент успешности лечения. Я говорю лишь об истинных карбункулах лица, а не о фурункулах; однако, и в этом последнем случае ранее лечение бактериофагом не менее показано. В самом деле: кто из хирургов не присутствовал при переходах, иногда чрезвычайно быстрых, вопреки всем лечебным воздействиям, фурункула и карбункула—в этой области, где соседство лицевой вены и кавернозного синуса так отягощает исход воспалительного процесса? Однако, с тех пор как я систематически прибегаю к бактериофагу, мне никогда не приходилось наблюдать перехода фурункула лицевой области в карбункул¹.

Что касается рецидивирующего фурункулеза, то Рага (Raiga) удалось установить, что эта форма заболевания встречается у индивидов,—носителей антибактериофагных свойств в крови. В таких случаях, он начинает лечение аутогемотерапией, так как это было указано выше, а, затем, лечит больного заглатыванием 2 кб. с. бактериофага ежедневно, натошак, в стакане воды; длительность лечения—2—3 недели.

„В результате этой двойной терапии, сперва подготовительной, а затем профилактической, я был свидетелем прекращения фурункулезов, из которых некоторые рецидивировали в течении ряда лет, несмотря на самые разнообразные, неоднократно повторявшиеся вакцинации; надо сказать, что обычные методы вакцинации, насколько показывает мне мой опыт, не особенно часто ведут к появлению противостафилококкового иммунитета: 50% больных, страдавших рецидивирующим фурункулезом и явившихся ко мне для лечения бактериофагом, —предварительно подверглись многократным курсам вакцинации сток-вакцинами или аутовакцинами“¹.

¹) Мне кажется необъяснимой надежда вызвать появление иммунитета введением мертвых бактериальных тел при инфекции, не оставляющей после себя никакого иммунитета, или, вернее, наоборот, —при которой первый фурункул предрасполагает к дальнейшему высыпанию,

Мне лично пришлось, случайно, лечить больных, страдавших рецидивирующим фурункулезом, и мне удалось добиться, если не полного излечения (я не имею права говорить этого, т. к. не следил за больными достаточное количество времени), то прекращения новых высыпей в результате единственного впрыскивания стафифага.

2. ПАНАРИЦИИ.

Я продолжаю цитировать Рэга (Raiga). „Поверхностные панариции могут быть излечены одними только инстиляциями. Что-же касается субапоневротических панарициев с тяжелым течением, которые могут быстро осложняться костными поражениями или поражениями сухожильных влагалищ—все зависит от момента, когда прибегают к лечению этих нагноений: если нагноение находится в стадии префистулезной или фистулезной,—простой прокол иглой шприца позволяет проникнуть без больших болей в воспалительный фокус, который можно широко обсеменить бактериофагом. Но когда имеешь дело с подкожным панарицием, только начинающем организовываться, когда лишь резкая боль, получающаяся в изолированной точке, обнаруживает присутствие гноя—иногда бывает чрезвычайно трудно, сквозь еще здоровые ткани, которые покрывают и скрывают глубокое нагноение—пункционировать очаг; в таких случаях, я предпочитаю, под местной анестезией хлорэтилом, сделать прямой небольшой разрез (длиной не более 3 или 4 миллиметров) на протяжении воспаленной области кончиком ланцета; после этого, я ввожу при помощи канюли, бактериофага с расчетом заполнить им всю нагнаивающуюся полость. Так как эти инфекции не всегда обязаны своим происхождением стафилококку, мною всегда применялась поливалентная смесь, заключающая в себе бактериофагов против важнейших гноеродных микробов ¹.

„Вы знаете все в какой мере нагноение последней фаланги пальцев болезненно. Однако, благодаря этому методу лечения, более половины больных, к которым он применялся (53%)—не испытывает никаких страданий уже в ближайшие часы, следующие за применением бактериофага; прекращение болей в срок 24—48 часов, наступает в 68% до 85% всех леченных случаев.

¹) Смесь различных рас бактериофагов, вирулентных по отношению к следующим бактериям: стафилококку, стрептококку, параколи, энтерококку, протей, синегнойной палочке. Я назвал эту смесь панофагом.

Что же касается стерилизации очага, с одной стороны, и с другой—истинного выздоровления, то поверхностные и глубокие панариции, нужно рассматривать отдельно. Менее чем в недельный срок—нагноение прекращается в 93% поверхностных панарициев и в 76% субапоневротических. Полное излечение, т. е. окончательное заживление—получено в менее чем 7-ми дневный срок—в 78% всех случаев при поверхностных и в 46% при глубоких панарициях; если же производить оценку результатов лечения к 10-му дню, то полученный процент будет соответственно: 86—66%.

„С тех пор как я систематически применяю бактериофага для излечения панарициев, следуя моей технике, мне удастся избежать удаления ногтя при периунгвеальных локализациях, и экстирпации последней фаланги при глубоких панарициях—во всех тех случаях, когда больные обратились ко мне ранее, чем они претерпели ванны в горячей воде или длительное обвалакивание разнообразными помадами. В некоторых случаях, несмотря на далеко зашедшую инфекцию, при которой чисто хирургическое вмешательство должно было бы повести к частичной ампутации или экзартикуляции, я сумел сохранить фаланги, пораженные остэитами или суставы, пораженные гнойными артритам и добился восстановления (в пальцах, очень тяжелого инфицированных), частичной или полной подвижности. С этой точки зрения, сравнение результатов обычной асептической хирургии с теми, которые получаются от лечения бактериофагом, говорит, несомненно, в пользу этого последнего метода, как в смысле быстроты лечения, которое делает возможным быстрое восстановление работоспособности пациента, так и из-за отсутствия увечий, которые ложатся тяжелым грузом на статистику перманентной частичной нетрудоспособности, в результате трудовых травматизмов.

3. АБСЦЕССЫ И ФЛЕГМОНЫ.

В случае скопления стафилококкового гноя (абсцесса или флегмоны) как поступать? Хирургия приказывает в подобных случаях прибегнуть к разрезу и дренированию. Но в сущности это обозначает борьбу с последствиями, а не с причиной нагноения. Гной представляет собой мертвое начало, которое не поддается воздействию бактериофага, как он не поддается воздействию и всякой другой медикации. Гной нужно эвакуировать; поэтому я произвожу прокол этих абсцессов независимо от того, каким микробом они вызваны (грудница, перипроктиты, флегмоны от кариозных зубов...). Можно было представить себе, что лечение горячего абсцес-

са теми самыми приемами, которые применяются нами к' абсцессам холодным, может усугубить воспалительные явления. Однако, ничего подобного не имеет места.

После местной анестезии (новокаином) здоровых тканей, находящихся в непосредственном соседстве с воспаленной областью, я ввожу троакар с тупо срезанным концом ¹, достаточного калибра для того, чтобы суметь полностью аспирировать, часто, вязкий и могущий содержать свертки гной. После опорожнения полости от гангренифицированных тканей—остается лишь стерилизовать образовавшийся карман промыванием бактериофагом; в зависимости от значительности гнойного скопления, иногда может появиться необходимость произвести в последующие дни одну или две новых пункции, сочетанных с промыванием бактериофагом; за это время наблюдается постепенное изменение макроскопических и микроскопических свойств гнойной жидкости. При повторных пункциях я стараюсь проделывать троакаром тот-же путь, который был пройден в первый раз, и анестезия в одобных случаях является, почти всегда, излишней. После этого вмешательства, последствием операционного акта останется лишь минимальный кожный след. Сравните, при маститах, последствие хирургического дренирования с тем рубцом, который остается в результате моего вмешательства.

А если вспомнить с какой быстротой наступает излечение, то вы больше никогда не захотите применять на своих больных уродующую операцию; для производства которой, при настоящем положении науки, нет никаких показаний и которая применяется лишь в силу косной привычки.

Чаще всего, я применял поливалентного бактериофага (за исключением абсцессов подмышечной области, которые почти всегда стафилококкового происхождения), так как микробные ассоциации чрезвычайно часты (не столько при острых маститах кормящих, как при флегмонах зубного происхождения или перианальных абсцессах и флегмонах). В моих случаях воспалительные фокусы не подвергались разрезу или дренажу; одно лишь применение бактериофага, после аспирации гноя пункцией, привело к полному излечению.

При наблюдении за ходом этих нагноительных процессов, подвергшихся воздействию бактериофага, отмечаются те-же признаки, на которые я указывал выше: быстрое исчезновение болезненности, ускорение выздоровления, отсутствие уродующих шрамов. С помощью этого метода мне удалось излечить абсцессы груди, заключавшие от 40 до 100 куб. с. гноя, в срок от 3 до 4 дней, без всяко-

¹ Видоизмененный троакар Кальве (Cal.è).

го шрама; а эстетическая точка зрения в этих случаях не должна быть отбрасываема в сторону.

Абсцессы ректальной области подвергаются также быстро обратному развитию, тогда как общеизвестна повергающая в отчаяние медлительность заживления ран в перианальной области, и, особенно, тенденции этих абсцессов к образованию ложных ходов, фистул. Разрешите мне привести случай перианальной флегмоны, который мне кажется интересным как по способу своего возникновения, так и по методу лечения: больная, 61 года от роду, проглатывает 26-го октября 1930 г. рыбью косточку; 6-го декабря, после длительного путешествия по кишечнику, эта кость фиксируется в стенке прямой кишки, где она вызывает образование флегмоны. Ее удалось легко удалить из прямой кишки; 8-го декабря больная госпитализирована в отделении моего шефа проф. Госсе (Gosset); температура колеблется в пределах 36—39°. Больная испытывает чрезвычайно острую боль; две инъекции, смешанной стоквациной (procudon), произведенные 17 и 19 декабря вызывает лишь небольшое понижение температуры, причем больная продолжает прежнему испытывать нестерпимые боли; местная припухлость остается без изменений. 21-го декабря эта больная поручена мне. Пункция индурированной опухоли, занимающей правую пара-анальную область, остается безрезультатной; я ввожу бактериофага; после резкого озноба и повышения температуры—на следующее утро—температура быстро спускается к норме, боли смягчаются, и 28-го декабря, т. е. спустя 7 дней после начала лечения, больная выписывается из госпиталя совершенно здоровой.

Заболевание зуба мудрости часто дает начало тяжелой, разлитой остеофлегмоне. Не разделяя мнения большинства стоматологов, которые советуют даже при острых инфекционных заболеваниях, извлечение зуба—виновника инфекции, я пытаюсь довести до холодного состояния инфекционный очаг до всяких хирургических попыток, которые в этой стадии не всегда являются безопасными. Случаи смерти, как последствия извлечения à chaud зуба мудрости не являются очень большой редкостью.

Бактериофаг позволяет мне стерилизовать в несколько дней эти флегмоны. Затем, мы приступаем к извлечению, уже вне всякой опасности генерализации инфекции, зуба мудрости и наблюдаем безлихорадочное послеоперационное течение ¹.

¹) Гальфен (Halphen) применял больше чем в 600 случаях флегмоны миндалевидных желез abortивное лечение бактериофагом (инъекция нескольких капель фага в толщу флегмоны шприцем) с очень хорошим успехом. В течение ближайших часов после инъекции—флегмоны начинают резорбироваться и все остальные симптомы параллельно ослабевают.

Проф. Цулукидзе, в первой Тифлисской Городской больнице, провел ряд случаев фаготерапии абсцессов и флегмон, из которых мы приведем два, наиболее тяжелых:

В первом из них автор имел перед собой разлитую флегмону кисти предплечья; несмотря на множественные разрезы, температура держалась в пределах 39° — 40° ; перед лицом неудачи обычного хирургического вмешательства, Цулукидзе удаляет дренажи и производит множественные инстилляции пиофага. К вечеру, температура больного начинает снижаться литически. Новая инстилляция пиофага.

На следующий день температура у больного приходит к норме и процесс идет к быстрому заживлению.

Второй случай—периуретральный абсцесс у старика; температура (аксиллярная)— $39,8^{\circ}$.

Цулукидзе проводит лечение согласно принципам Рэга (аспирация гноя и вливание на его место пиофага).

После первой же инстилляции—температура идет на литическое снижение и через несколько дней наступает полное выздоровление, безо всякого хирургического вмешательства, казавшегося, однако, необходимым.

Заканчиваем этот параграф чрезвычайно интересным наблюдением проф. Цулукидзе:

Этим хирургом был оперирован абсцесс печени, по обычным правилам, без лечения фагом. При первой же перевязке внимание Цулукидзе привлекается исключительно чистым состоянием раны; общее состояние больного превосходно, температура нормальна. Заподозрив самопроизвольное вмешательство бактериофага, автор предлагает лаборатории произвести посев с соскоба стенок раны; посев дает культуру синегнойной палочки, испещренную негативными колониями бактериофага. Учитывая наличие в ране фага, хирург воздерживается от перевязок. На одиннадцатый день больной выписывается из больницы вполне излеченным (известно, что при этом заболевании, если и наступает выздоровление, то не ранее нескольких недель после успешной операции).

Следовательно, в этом случае быстрое и полное выздоровление было обусловлено наличием в очаге активного бактериофага; попавшего в рану из кишечного просвета больного.

4. ИНФИЦИРОВАННЫЕ РАНЫ.

„На поверхность инфицированных ран достаточно наложить повязки, пропитанные бактериофагом. Эти повязки производят дезинфицирующее действие, одновременно ускоряя процес заживления“.

В случае инфицированных ран, какого бы то они не были происхождения, необходимо применять смесь различных рас бактериофага, также как и при панарициях и остальных нагноительных процессах, которые не вызваны одним стафилококком. Быстрота излечения, которую отмечает Рэга (Raiga) отмечена также рядом других хирургов, применявших бактериофаг; по всей вероятности, она объясняется тем фактом, что заживление происходит в присутствии бактериофага в условиях асептических, и с другой стороны, этому заживлению не препятствует наличие антисептических веществ. Я напому первый из случаев излечения, при котором был применен бактериофаг, имевший место в 1922 г. Д-р Дэмаре (Desmairs), хирург госпиталя Бисэтр (Bicetre) призывает меня, чтобы показать больного с диффузной флегмоной, занимающей все правое бедро: флегмона являлась последствием раны, полученной в результате травматизма на производстве; по его мнению, больной был в безнадежном состоянии, т. к. ампутация была противопоказана (температура выше 40°). „Вот случай показать нам, что может сделать ваш бактериофаг“, сказал мне хирург. Мною было введено около 4 кб. с. стафифага дробными дозами в 10 различных мест инфицированной поверхности. Спустя 2 часа, температура повысилась и достигла 42° , а затем через час или два началось быстрое падение температуры, сопровождавшейся резким ознобом и проливным потом. На следующий день температура была ниже 37° (я указываю ректальную температуру) и общее состояние больного радикально изменилось. Локально, отечность бедра спала почти полностью. Все же не совсем уверенный в благополучном исходе, хирург решил лишь отложить на день или два ампутацию, которая казалась ему необходимой. Спустя 2 дня—уже не могло быть речи об операции, т. к. бедро являло совершенно нормальный вид, больной при давлении не испытывал никаких болей, а сама рана находилась на пути к полному излечению. 15 дней спустя больной, рабочий механического производства, вышел из госпиталя выздоровевшим, самостоятельно, на обеих ногах. Редко, когда врачу приходится испытывать подобное удовлетворение.

Я должен сказать, что в настоящую минуту, в аналогичном случае, я бы применил не только одного стафифага, но смесь бактериофагов, воздействующих на различных гноеродных микробов. В данном случае, на мою удачу, флегмона оказалась чисто—стафилококкового происхождения.

Цулукидзе, в 1935 году, приводит два случая инфицированных огнестрельных ранений,

В первом случае, автор имел перед собой огнестрельное ранение плеча с раздроблением плечевой кости и сложным переломом лопатки. Заболевание длилось уже шесть недель, больной перенес шесть хирургических вмешательств. К моменту применения бактериофага—вся раневая область представляет собой диффузную флегмону; общее состояние больного тяжелое, температура гектическая. Автор удаляет дренажи и производит, в течение трех дней, множественные инстилляциии бактериофага. На третий день состояние больного настолько улучшается, что ему разрешено вставать; выздоровление наступает безо всяких осложнений.

Во втором случае—автор имел дело с огнестрельным ранением в области бедра, осложненным инфекцией. Инстиляция и орошение раны пиофагом привели к полному и быстрому излечению.

Следует отметить, что лечение бактериофагом (пиофагом) ран в военной обстановке представляет неоценимые преимущества, не только благодаря его эффективности, скорости заживления и абсолютной безвредности, но и по простоте его применения и ненужности при нем частой смены повязок. Это, вместе взятое, делает возможным бактериофаготерапию и профилактику раневых инфекций осуществлять на передовых позициях.

5. СТАФИЛОКОККОВЫЕ СЕПТИЦЕМИИ.

Эти септицемии бывают двух родов; чистые септицемии и септицемии с костными или суставными локализациями. Разберем в начале первое. В 1929 году Давиу (Davious) по моему совету, применил впервые интравенозную инъекцию бактериофага, согласно рекомендованной мною технике; эта техника является наилучшей не только при стафилококковых или стрептококковых септицемиях, но и при всех остальных случаях, когда желательно прибегнуть к интравенозному применению бактериофага; врач должен, раньше всего, иметь в виду, что интравенозное введение бактериофага вызывает, обычно, меньше чем спустя час после инъекции—бурную реакцию с резким подъемом температуры, могущей дойти, иногда, до 40°; эта высокая температура держится от 2 до 4 часов, вслед за тем начинается падение температурной кривой, которое также может быть очень резким и сопровождаться ознобом и обильным потом; температура доходит до 36°, а иногда опускается еще ниже с тем, чтобы впоследствии дойти до нормальных цифр.

Желательно, при практическом интравенозном применении бактериофага, иметь в руках взвесь бактериофагных телец в бульоне,

не содержащем пептонов¹, но в случае отсутствия нужных ингредиентов можно применять без особых опасений и обычный пептонный бульон, т. к. незначительное количество содержащегося в нем пептона (5 млгр. в куб. сантиметре) не может вызвать само по себе сколько нибудь заметного шока.

Чему обязан своим происхождением шок, следующий за интравенозным применением бактериофага? Не пептону, т. к. он наблюдается и в тех случаях, когда питательная среда не содержит и следов этого ингредиента.

Остаются на подозрении: сперва самые бактериофагные тельца, а затем, бактериальная субстанция, лизированная и солюбилизованная, за счет которой бактериофагные тельца размножились. Для того, чтобы решить какое из двух предположений является наиболее правильным, следует принять во внимание, что если бактериофаг, введенный в организм, не вызывает *in vivo* бактериофагического процесса (потому ли, что он не обладает вирулентностью по отношению к бактерии, вызывающей заболевание, или потому что кровь больного содержит антифаги)—инъекция не вызывает никакой реакции, несмотря на то, что растворенная бактериальная субстанция, разумеется, всегда присутствует во введенном лизате. Значит, нужно заключить, что шок, следующий за интравенозной инъекцией, а иногда даже за инъекцией подкожной, обязан своим происхождением самому акту бактериофагии *in vivo*; шок тем резче выражен, чем массивнее и быстрее процесс лизиса патогенных бактерий в организме. Впрочем, совершенно понятно, что растворимые продукты, происходящие от солюбилизованных в течении 2 или 3-х часов бактериальных тел, находящихся в инфицированном организме, попадая в кровь, вызывают резкое нарушение коллоидального равновесия. Таким образом, шок есть прямой симптом бактериофагии *in vivo* и все, прибегнувшие к этому способу лечения, могут считать шок хорошим прогностическим признаком. Изложенное касается всеобщности явления бактериофагии *in vivo*, независимо от того, имеем-ли мы дело с септемиями стафилококковыми или стрептококковыми, с брюшным тифом или чумой.

Количество бактериофага, могущего быть введенным—зависит от состояния больного. Если дело идет о пациенте в начале заболевания, т. е. находящемся еще в состоянии сравнительно хорошей

¹ Можно найти в продаже экстракт дрожжей выпускаемый под наименованием „Vitam“ в Германии или „Savita“ в САСШ; в этом экстракте не содержится даже следов протеиновых веществ или пептонов. 10 грамм экстракта на литр воды с добавлением 5 грамм хлористого натра, представляют превосходную питательную среду.

сопротивляемости, можно ввести 10 кб. с. бактериофажной взвеси. Если же идет дело о запущенном случае, когда больной чрезвычайно ослаблен, с декомпенсацией сердечной деятельности,—нужно вводить лишь очень незначительное количество фага (порядка $1/2$ кб. с.), с тем, чтобы через день или два применить более высокую дозу. Между двумя крайними состояниями: хорошей сопротивляемости и резкой слабости, находится гамма промежуточных состояний, которой должна соответствовать гамма дозировки бактериофага. Однако, следует заметить, что чем примененная доза сильнее, и бактериофагия *in vivo* более резко выражена, тем выше шансы быстрого выздоровления.

Возвращаясь к технике инъекции, изложим ту, которая была применена Давиу (Davoud) по моим указаниям: избранная доза бактериофага разбавлена в стерильном физиологическом растворе (от 100 до 500 кб. с.); температура смеси доводится до 37° ; интравенозное введение производится чрезвычайно медленно, с таким расчетом, чтобы 500 кб. с. могли быть введены в срок от 30 до 40 минут; количество физиологического раствора, разумеется, будет взято в соотношении с количеством бактериофага и время инъекции рассчитано в зависимости от объема подлежащего введению физиологического раствора. Должно быть принято, как правило, что раса взятого бактериофага должна быть доведена до максимальной экзальтации вирулентности по отношению к патогенной бактерии, которую имеется в виду лизировать.

Известно, что смертность от стафилококковой септицемии очень высока, несмотря на применение всех способов лечения, бывших в ходу до нынешнего времени.

При лечении интравенозными инъекциями стафифага цифра смертности равна, приблизительно, 20% (среднее из 100 опубликованных доныне, случаев); причем и тут оправдывается общее правило: чем раньше начато лечение, тем больше шансов добиться выздоровления. Привожу как пример случай Давиу (Davoud): женщина, 40 лет, больна три месяца. У нее наблюдается ряд метастатических абсцессов; последним был оперирован у нее почечный абсцесс. К моменту вмешательства больная находится в состоянии чрезвычайной слабости; температура держится в пределах $38,5—39,5^{\circ}$; 2 гемокультуры, произведенные на протяжении 8 дней одна от другой, дали положительные результаты: выделены в чистой культуре золотистые стафилококки. Больной вводится в вену предплечья 10 кб. с. стафифага, растворенного в 500 кб. с. физиологического раствора; инъекция регулируется таким образом, чтобы весь объем жидкости был бы введен за 45 минут. В течении бли-

жайших 30 минут, следующих за инъекцией, начинается термическая реакция: температура быстро поднимается от 38,8 до 41,6°, с резким ознобом; она держится в продолжении 2-х часов в пределах 41,5°, затем понижается при проливных потах; спустя 12 часов температура спускается до 36,2 и в дальнейшем держится на нормальных цифрах. Через 2 недели больная выписывается из больницы в состоянии полного здоровья; повторные осмотры в течении ближайших лет показывают, что достигнутое выздоровление является окончательным.

6. СТАФИЛОКОККОВЫЙ МЕНИНГИТ.

Эта болезнь была рассматриваема до последнего времени, как смертельная: ни в одном случае, где в цереброспинальной жидкости было установлено наличие стафилококка, выздоровления не было констатировано; по имеющимся у меня сведениям, в двух случаях означенного заболевания был применен бактериофаг.

Шлесс (Schless) опубликовал в 1922 г. первый случай, где ребенок 10-ти лет представлял в течении 4-х дней симптомы менингита. Культура цереброспинальной жидкости, полученная лумбальной пункцией, показала наличие стафилококка. На 5-й день, 10 кб. с. стафифага (в неразведенном состоянии) введено в спинно-мозговой канал, по извлечении соответствующего количества цереброспинальной жидкости. В момент инъекции, больной находится в состоянии опистотонуса, при явлениях резкой интоксикации. Спустя час после инъекции наблюдается реакция: подъем температуры, озноб, проливные поты, потом температура опускается до нормы с одновременным исчезновением симптомов. На следующий день после инъекции — посев спинно-мозговой жидкости остается стерильным. Несмотря на это (что мне кажется совершенно излишним) Шлесс (Schless) продолжал производство инъекций бактериофага в спинно-мозговой канал; в течении ближайших 12 дней, он производит 7 новых инъекций от 10 до 15 кб. с. бактериофага каждый раз; следует отметить, что эти новые инъекции не вызывают даже легчайших реакций, что лишний раз подтверждает объяснение ответной реакции как симптома бактериофагии *in vivo*. Леченый фагом ребенок выздоравливает после краткого периода конвалесценции.

Ректин (Rakietien) и я применили бактериофаг в другом аналогичном случае у ребенка, страдавшего менингитом, возникшим вслед за травматическим повреждением бедра. Культура спинномозговой жидкости позволила убедиться в наличии золотистого ста-

филококка; количество микробов было так велико, что в их присутствии можно было убедиться прямой бактериоскопией спинно-мозговой жидкости. Больному производится однократное введение 10 кб. с. стафифага. Ввиду наличия антифагов в крови, нами был применен бактериофаг, прошедший через процесс приспособления к антисыворотке. После инъекции получается обычная ответная реакция; спустя 12 часов после инъекции производится новая лумбальная пункция, давшая стерильную спинномозговую жидкость; ребенок выздоровел без всяких осложнений. При этих заболеваниях имеются все основания утверждать, что примененный бактериофаг является виновником выздоровления; в природных условиях выздоровление не наблюдается потому, что за короткое время течения болезни процесс приспособления кишечного бактериофага не может иметь места в силу локализации болезнетворных микробов; но если осуществить, экспериментально, контакт между микробом, виновником инфекции, и гипервирулентными по отношению к нему бактериофагными тельцами—бактериофагия может наступить и выздоровление идет вслед за этим.

7. ОСТЭОМИЭЛИТ.

Клейс (Clayes) и Пэйр (Peure) впервые применили бактериофага при лечении этого заболевания. Способ применения—повязки, пропитанные фагом. Подготовительная аутогемотерапия может дать наилучшие результаты именно при этой болезни. Рага (Raiga) применял бактериофага в ряде случаев остеоимелита с положительными результатами. Для примера я приведу два случая: один, леченный с самого же начала, и другой, более застарелый.

„Бактериофаг, примененный во-время, показал себя способным воспрепятствовать омертвлению и секвестрации костных участков: дело шло о молодом человеке, с карбункулом, занимающем всю поверхность верхней губы, которого я начал лечить 31 декабря 1928 г. 4-го января он начал жаловаться на резкую боль, локализованную в верхней трети правого плеча; боли были циркулярные, характерные для остеоимелита. Лечение бактериофагом, сочетанное с аутогемотерапией (т. к. в крови этого больного были обнаружены антифаги), не только, за 15 дней, совершенно ликвидировало первую костную локализацию вне всякого оперативного вмешательства, но применение этих двух терапевтических приемов позволило добиться излечения в течении 9 дней второго очага остеоимелита, обнаружившегося 16 января в противоположном плече;

Эти наблюдения Рэга (Raiga) доказывают, что если начать лечение субъекта в юношеском возрасте в чисто септицемической стадии заболевания, то больной может выздороветь без хирургического вмешательства, несмотря на явные признаки костной локализации.

Следующее наблюдение. 17-летний юноша 4 года тому назад болел остеомиелитом, для излечения которого понадобилось несколько последовательных хирургических воздействий. Последняя фистула закрылась 3 мес. тому назад, но, почти непосредственно вслед за этим, больной начал жаловаться на тупые боли в области левого бедра. Боли мало по малу усиливались; больной не мог пользоваться конечностью и у него установилась субфебрильная температура. Поставлен диагноз рецидива стафилококковой инфекции с поражением левого тазобедренного сустава. Лечащий врач, желая избежать для своего пациента, чрезвычайно ослабленного длительностью предшествующих нагноительных процессов, операции, передает больного доктору Рэга (Raiga).

Исследование крови показало наличие в ней антифагов, ввиду чего Рэга начинает лечение аутогемотерапией.

В течение декабря мес. на уровне передней наружной поверхности верхней трети бедра выявилось глубокое гнойное скопление; пункция, сделанная 17 декабря, троакарном Рэга (№ 9) дает 30 кб. с. сиропообразной, мутной, с зелеными отсветами жидкости. Немедленно вслед за этим Рэга вводит в очаг 5 кб. с. стафифага. 14 января, после окончания предварительного курса аутогемотерапии, вводится интравенозно 9 кб. с. стафилофага, разведенного в 300 кб. с. физиологического раствора. Температура больного к этому времени: $37,3^{\circ}$, утром — $37,6^{\circ}$ — вечером. Интравенозное вливание начато в 19 час. и закончено в 19 час. 20 минут. В 19 час. 30 минут начался озноб и термометр поднялся до $38,9^{\circ}$; в 20 ч. 15 мин. температура достигает $39,8^{\circ}$, в 22 часа 50 мин. — $40,2^{\circ}$ при проливных потах. Общее состояние больного было в такой мере удовлетворительным, что даже впрыскивание камфоры не оказалось нужным. К утру следующего дня температура дошла до $37,6^{\circ}$ и вечером до $36,8^{\circ}$. После этой интравенозной инъекции субфебрильная температура прогрессивно исчезла и после последней пункции абсцесса с промыванием полости фагом, температура дошла до нормальных цифр. Общее состояние больного резко улучшилось (возвращение аппетита, прибавление в весе) и боли в тазобедренном суставе исчезли. В январе следующего года здоровье пациента продолжало быть превосходным.

В подобном случае, классическим лечением была бы артротомия, причем чрезвычайно ослабленный больной мог и не выдержать

этой операции. „Я находился, говорит Рэга, перед лицом двух патологических процессов: перед местным поражением тазобедренного сустава, артритом, и общей инфекцией, септиемией, которая на расстоянии от почти потухшего первичного очага дала начало новой инфекционной локализации. Находясь в таких условиях, я непосредственно воздействовал на суставной очаг излечения гноя и введением *in situ* стафилофага. Одновременно я противоборствовал общей инфекции интравенозной инъекцией стафилофага на безпептонной среде. Эти два мероприятия повели к выздоровлению больного“.

Я закончу этот длинный параграф указанием на то, что лечение бактериофагом может быть применено и уже применяется с успехом при всех нагноительных процессах, отитах, послеоперационных острых воспалениях околоушной железы (инфекция встречающаяся в 2—3% всех лапаротомий).

Если вмешательство бактериофага имеет место в самом же начале, до образования гноя, то его введение в толщу воспаленной области вызывает обратное развитие воспалительного процесса. Если же вмешательство имеет место тогда, когда уже возникло гнойное скопление, то, разумеется, необходимо удалить этот гной, т. к. бактериофаг не в состоянии вызвать или ускорить его резорбцию.

Последнее указание. Не следует, при применении бактериофага, прибегать к какомунибудь иному терапевтическому воздействию: даже одновременное применение самых безобидных антисептических средств может оказаться вредным в смысле результатов лечения, т. к. бактериофажные тельца чрезвычайно чувствительны к действию антисептиков. Затем, рекомендуется проводить лечение бактериофагом, по возможности, с самого же начала инфекции.

8. ПЕРИТОНИТЫ.

Лечение перитонитов, возникших последовательно за прободным аппендицитом, было испробовано многократно с большим успехом, главным образом, Шульцем (Schultz) в Калифорнии. Им была применена смесь коли-фага и стафилофага. Я, со своей стороны, советовал бы применение более поливалентного бактериофага, например, того, на который я указывал выше под названием пиофага.

В своей докторской диссертации Альберт Леон (Albert Léon), из Мексико, приводит 12 случаев лечения травматического перитонита пиофагом, из которых 11 заканчиваются выздоровлением. Способ применения заключается в ведении в брюшную полость, при

посредстве дренажной трубки, не менее 50 кб. с. чистого пиофага и повторении этой дозы ежедневно и даже через каждые 12 часов ¹.

Проф. Цулукидзе, в хирургической клинике 1 горбольницы в Тифлисе, применил бактериофаготерапию в 21 случае кишечных перфораций, а именно:

- в четырех случаях травматических разрывов кишек;
- в семи случаях прободного перитонита;
- в семи случаях перфорации кишечника при брюшном тифе;
- в трех случаях перитонитов: 2 стафилококковых и 1 колибациллярного.

Во всех этих случаях, производилось выделение в брюшную полость смеси стафилококкового, колибациллярного и синегнойного бактериофага; в случаях брюшнотифозных перфораций добавлялся противотифозный фаг.

Эти работы были проведены Цулукидзе в 1934 году, когда в его распоряжении не было еще „пиофага“; я бы рекомендовал применение при перитонитах „пиофага“ и „интестифага“, т. е. смесь селекционированных литических начал против всех гнѳеродных возбудителей, могущих встретиться в кишечном просвете.

На 21 случай—Цулукидзе получил 17 выздоровлений, что представляет, при указанных заболеваниях, блестящую статистику.

Что же касается перфораций при брюшном тифе, то проф. Цулукидзе является инициатором наиболее рациональной и безопасной их терапии.

9. СРЕПТОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ.

Мы лишены возможности с той-же уверенностью в успехе прибегать к бактериофагу при заболеваниях, вызванных стрептококком с какой мы лечим стафиломикозы. Об'яснение заключается в том, что мы располагаем рассами противостафилококкового бактериофага, которые, в смеси,—атакуют практически почти все штаммы стафилококков; в отношении-же стрептококков—дело обстоит иначе. Даже смесь наиболее активных из донныне выделенных рас стрептофагов не в состоянии атаковать большинство стрептококков, имею-

¹. Я укажу по этому поводу на опыты Зайцева-Иерн (Zaitseff-Jern): он вводит в брюшную полость мышки 50 смертельных доз культуры кишечной палочки, и, затем, через различные промежутки времени—0,5 кб. с. коли-фага. Все мыши, получившие бактериофага, не позже 3 часов 30 минут после введения инфицирующей дозы, выживают; спустя 4 часа—выживает лишь половина; после 4 1/2 часов все опытные мышки погибают. Контрольные мыши погибают спустя 5 часов после впрыскивания взятой дозы культуры кишечной палочки.

ющихся в патологических продуктах. Но мне кажется позволительным надеяться, что через несколько лет, когда технические усовершенствования и массовые селекции, производимые в различных лабораториях, позволят добиться получения рас стрептофагов с широким веером вирулентности, мы не будем так слабо вооружены перед этой инфекцией. Однако, несколько хирургов уже применили лечение при послеродовых септицемиях интравенозными инъекциями стрептофага. Произведенные опыты лечения оставляют впечатление, что при условии высокой активности примененного фага по отношению к стрептококку—виновнику заболевания, у больных, при послеродовых инфекциях, выздоровление достигается с еще большей легкостью, чем при стафилококковых септицемиях.

10. О З Э Н А.

Я укажу для полноты, что Хальфен (Halphen) и Джиропуло (Djiropoulos) произвели попытки лечения этого заболевания применением бактериофагов, вирулентных для выделенных от каждого индивидуального случая бактерий. Они начали с попыток воздействовать на органический субстрат инъекциями ацетилхолина или рентгенизацией надпочечников. По окончании этой подготовительной стадии лечения—ими производилось введение фагов в слизистую носа. Авторы указывают на 65% окончательных выздоровлений.

11. БРЮШНОЙ ТИФ И ПАРАТИФ ¹.

Первые опыты лечения бактериофагом брюшного тифа были малоблагоприятны: наряду с небольшим количеством случаев, где получался блестящий эффект, в громадном большинстве их лечение оказывалось абсолютно безрезультатным. В настоящее время эти неудачи мне кажутся легко объяснимыми: расы примененных бактериофагов были или слишком маловирулентными, или недостаточно поливалентными и в силу этого—их действие могло не простирается на те штаммы тифозных палочек, носителям которых являлись больные. Действительно, мы еще не имеем в руках рас бактериофагов, которые могли бы лизировать все штаммы тифозных палочек; но систематическое изучение этого вопроса в моей лаборато-

¹. При эпизоотии тифа пернатых (вызванного микроорганизмом из группы сальмонелл) изученной мной в 1919 г. мне удалось добиться уменьшения смертности которая в острых случаях достигает не менее 95%—до 5%, путем введения в организм кур $\frac{1}{4}$ кб. с. бактериофага. Крамер (Kramer) получил аналогичные результаты.

рии за 5 последних лет позволило отобрать среди многих сотен выделенных рас—десяток мощных фагов, которые, примененные в смеси, атакуют, практически все, штаммы тифозной палочки, изолируемые от больных. Я, например, испытал действие этой смеси на 11 штаммах тифозной палочки, изолированных в АСШ, 20 штаммов, выделенных в Венгрии, 23 штамма выделенных в Грузии (СССР), 30 штаммов, изолированных во Франции, и все они, без исключения поддались бактериофагии с одинаковой интенсивностью.

Беккерих (Beckherish) и Одюруа (Hauduroy) подвергли в 22 году 10 случаев брюшного тифа лечению бактериофагом (1 кб. с. под кожу) и 5 кб. с. per os). В 4 из них—они получили, спустя 2 часа после инъекции, обычную, следующую за введением бактериофага, реакцию: подъем температуры, проливные поты, понижение температуры. В 6-ти остальных случаях лечение никакого изменения в состоянии больных не вызвало. Два случая паратифа В были лечены тем же способом, оба с успехом.

В 1924 году Алессандрини (Alessandrini) и Дориа (Doria) опубликовывают результаты 18 случаев брюшного тифа, леченных интравенозным введением бактериофага. Ими отмечается бурная реакция, наступающая в срок от 15—20 минут после инъекции; ускоренное дыхание, цианоз, ускорение пульса, повышение температуры и проливные поты с одновременным падением температуры до нормы. Эта реакция имела место в 9-ти случаях, во всех этих случаях они наблюдали выздоровление. В 9-ти остальных случаях никакой реакции не наблюдалось и никакого улучшения в состоянии больных также не отмечено.

В 1924 г. Хедерши (Hederschce) и Вольф (Wolff) испытывают лечение бактериофагом, в Амстердамской больнице на 100 случаях брюшного тифа—безрезультатно. Расы примененных этими авторами бактериофагов, были изучены в моей лаборатории Сертичем (Sertic) и Булгаковым (Boulgakow); их вирулентность оказалась чрезвычайно слабой (удвоение корпускулов фага за 3 часа, т. е. вирулентность 55), нами же сейчас применяются те расы, вирулентность которых не ниже 1.000.

Смис (Smith), Дуран-Рейнальс (Duran Reynals), Манузакис (Manousakis) опубликовали ряд наблюдений, по поводу лечения брюшного тифа бактериофагом; в некоторых случаях отмечается ясный успех лечения, но в других—полное отсутствие какого бы то ни было терепевтического эффекта.

Мы, с своей стороны, из тех нескольких случаев лечения, фагом брюшного тифа, которые нам удалось провести в Тифлисе, сов-

местно с проф. Микеладзе (к сожалению, мне еще не довелось встретиться с настоящей эпидемией брюшного тифа), убедились в следующем:

1. Если вводить интравенозно брюшнотифозному больному в возможно ранней стадии заболевания (не позже 12 дня), одну единственную дозу, заключающую в себе от 5 до 10 кб. с культуры селекционированных противотифозных бактериофагов, то мы получим чрезвычайно бурную реакцию, наступающую приблизительно спустя час после инъекции, длящуюся от 4 до 6 часов и завершающуюся резким падением температуры, могущей дойти до 35° . В течении этого кризиса больной кажется в чрезвычайно тяжелом состоянии, но мало по малу тифозная обнубиляция рассеивается и, по окончании реакции, исчезает совершенно. Температура, однако, может подняться снова до $38-39^{\circ}$, с тем, чтобы за 8 суток дойти до нормальных цифр; но в течении этого периода состояние больного остается превосходным, он сам себя чувствует как-бы выздоровевшим. Гемокультура, спустя срок от 1 до 3 дней после введения фага, из положительной становится отрицательной.

2. То-же лечебное воздействие, но примененное в сравнительно поздней стадии, т. е. на 2-й неделе заболевания, дает совершенно иную картину. В этом последнем случае имеются две возможности:

а) у некоторого количества больных вслед за вспрыскиванием не наблюдается никакой реакции; заболевание протекает в том же направлении, как и до применения бактериофага.

б) в других случаях, в особенности у субъектов с ослабленным сердцем, реакция может иметь место, но сопротивляемость организма может быть так ослаблена, что больной не в состоянии эту реакцию перенести.

Тот небольшой круг наблюдений, касающийся лечения селекционированными бактериофагами брюшного тифа, который мы имели возможность провести в Тифлисе, позволяет нам вывести следующее заключение; противотифозный бактериофаг представляет собой специфический способ лечения против брюшного тифа, но его следует применять лишь в первые дни заболевания, в бактериемической его стадии и во всяком случае, не позднее 12-го дня от начала заболевания. По прохождении этого срока, применение бактериофага эндовенозным путем не показано; разумеется, ничто не мешает применять его per os в любых дозах и с любой частотой (т. к. никакой реакции в этих случаях не приходится опасаться), он совершенно несомненно, что действие бактериофага, принятого путем заглатывания, гораздо менее ясно выражено, чем действие того-же бактериофага, но введенного интравенозно.

Эти выводы следует считать лишь предварительными и необходимо продолжать наблюдения в указанном направлении. Я имел в виду заняться этим в текущем году в Тифлисе, но брюшной тиф, бывший ранее эндемичным в этом городе, резко исчез.

Я считаю своим долгом остановиться на реакции, получающейся в результате интравенозного введения тифозного бактериофага, т. к. ответная реакция в этих случаях сильнее и резче выражена, чем при всяком ином заболевании.

Многие экспериментаторы обвиняют пептоны, содержащиеся в бактериолизате, в вызывании этого шока. Мне это объяснение кажется неприемлемым и вот по каким соображениям:

1. Интравенозная инъекция мясопептоного бульона здоровому человеку, в равной дозе — не вызывает никакой реакции, как я в этом неоднократно убеждался.

2. Мы, совместно с Микеладзе, отметили у тифозных больных ответную реакцию, необычайно бурно протекавшую (падение температуры с $40,5^{\circ}$ до 36° в одном случае, с $40,3^{\circ}$ до $34,1^{\circ}$ в другом случае, и это в течении времени меньшем, чем 10 часов); (приведенные цифры указывают на аксиллярную температуру). Однако, эти реакции мы наблюдали при применении тифозных фагов культивированных на экстракте, но содержащем и следов пептонов.

3. Если бактериофаг, пущенный в ход, не обладает вирулентностью по отношению к палочке, носимой больным (что может иметь место у больных, поздно подвергнувшихся лечению и у которых мутации *in vivo*, могли успеть образоваться), то введение бактериофага проходит абсолютно ареактивно.

Так как реакция имеет место лишь в том случае, если введение бактериофага служит толчком к возникновению бактериофагии, то отсюда не обходимо заключить, что реакция, следующая за инъекцией, есть видимый симптом, осязаемый результат этой бактериофагии *in vivo*.

12. ЧУМА ЧЕЛОВЕКА ¹.

Первые попытки терапевтического воздействия бактериофагом на бубонную чуму датированы 1925 годом. 12 июля в Александрию

¹. При одном из заболеваний животных, вызванном микроорганизмом из группы пастерелл (геморагической септицемии буйволов) Лелуэ (Le Louet), однократным интравенозным введением 50 кб с. бактериофага, сумел спасти животных, находившихся в агональной стадии. В Индо-Китае, смертность от этой болезни—100%-ная. Течение заболевания в такой степени молниеносно (животное редко выживает свыше 12 часов, обычно смерть наступает спустя 2 или 3 часа после наступления первого симптома), что процесс естественного выздоровления не успевает проявиться.

прибыл из Греции пароход. Во время корабельного осмотра, дежурный врач обнаружил матроса с двухсторонними аденитами при высокой температуре. По показаниям корабельного врача, этот больной 10 июля жаловался на головокружение, головные боли и 2-х сторонний амигдалит; а в ночь с 11-го на 12-ое обнаружилось припухание паховых желез; поставлен диагноз чумы и больной направлен в соответствующий барак.

Исследование сока, полученной пункцией бубона, показало, при прямой бактериоскопии, наличие биполярно окрашенных коккобациллов. Посев дал типичную культуру палочки Иерсена (Jersin), агглютинировавшуюся до титра противочумной сывороткой; морская свинка, привитая тем же самым материалом, погибла 72 часа спустя при характерной патолого-анатомической картине экспериментальной чумы.

Среди команды того же судна, подвергнутой обсервации к концу 12 числа, один юнга оказался с повышенной температурой и тотчас же изолируется; состояние его постепенно ухудшалось до 15 числа, когда появилось припухание правой подчелюстной лимфатической железы; и в этом случае пункция железы позволила установить наличие типической чумной палочки. В ночь с 12 на 13-е заболевает судовой офицер при явлениях головной боли, озноба и повышения температуры. Вечером того-же дня, обнаруживается припухание правой паховой железы и диагноз чумы подтверждается бактериологически. Все эти больные подверглись лечению культурой бактериофага, изготовленной следующим образом: 20 кб. с. бульона засеиваются одной каплей сока бубона, происходящего от первого случая. 28 часов спустя, когда культура уже хорошо развилась, к ней прибавлялась капля взвеси бактериофага, вирулентного в отношении *b. pestis*¹.

Спустя 3 часа—культура была полностью лизирована; прозрачная среда была профильтрована через свечу Шамберлана L₅, этот фильтрат был применен для лечения 1 и 3-го случая.

Случай 1. Больному 18 лет. 13-го июля 14 час. температура 40,3°, пульс 120, адинамия, оба бубона размером с небольшой орех. Бактериофаг вводится в дозе полукубика во-внутрь каждого из двух бубонов; вскоре вслед за этим температура поднимается до 40,8° без резко выраженной общей реакции.

¹. Эта раса бактериофага была изолирована в Индо-Китае, в 1920 году, из испражнений крыс, подобранных в хранилищах для риса в городе Бак-Льс, где за некоторое время до этого имела место эпидемия бубонной чумы. Бактериофаг сохранялся мною с 1920 г. по 1925 г. в запаянных ампулах с ежегодными пассажами через культуру чумной палочки.

14-го температура: утром—39°, вечером—39,2°; больной производит несравненно лучшее впечатление; он жалуется лишь на слабость; бубоны безболезненны и лишь несколько увеличиваются в объеме.

15-го—утренняя температура 38°, вечерняя—38,4°, больной может сесть на постель.

16-го—утренняя температура 37,6°, вечерняя—38°. Больной чувствует себя отлично и просит есть. Бубоны увеличены в размере, но безболезненны.

Я пунктирую шприцем левый бубон и извлекаю несколько капель кровянистой жидкости. Посев этой жидкости остается стерильным, зараженные ею морские свинки остаются живы. Поиски бактериофага в означенной жидкости устанавливают наличие высоковирулентного бактериофага по отношению к чумной палочке.

В последующие дни отмечается температура: 17-го—37° и 37,4°; 18-го—36,5—37°; 19-го—36,4, 36,5°, и она продолжает держаться в дальнейшем на нормальных цифрах.

Оба бубона вскрыты 25 июля и оказались содержащими стерильный гной. 8-го августа наступило полное заживление.

Случай 2. Больному 16 лет. 15 июля утром температура 39,4°, пульс нерегулярный, 126 в минуту; конъюнктивы резко инъекцированы, полная адинамия. Подчелюстная лимфатическая железа имеет размеры небольшого орешка. В 15 часов я ввожу в самый бубон 1 кб. с бактериофага. Никакой реакции не отмечается.

16-го утром, 17 часов после инъекции, все болезненные симптомы исчезают, за исключением бубона, совершенно безболезненного. К моменту моего осмотра больной сидит на постели, улыбается, температура 37,2°, пульс 70, хорошего наполнения; 16 июля температура 37,2° утром, 37,8—вечером; 17-го 36° и 36,5°; в дальнейшем она остается на нормальных цифрах.

Проверка посевом и заражением животного показала стерильность бубона.

Из бубонного сока мною выделен, снова, бактериофаг (спустя 60 часов после его введения в бубон) ¹.

Субмаксиллярный бубон медленно резорбируется, к 8-му августа он еще имеет объем небольшого горошка.

Случай 3. Больному 40 лет. 13 июля температура 40,3°, пульс 124, аритмичный. Конъюнктивы инъекцированы, лицо красное, отечное, адинамия, правая паховая железа припухла, болезненна. При-

¹. Мною этот бактериофаг, пассированный через случай № 2, применен для лечения случая № 4.

нимая во внимание ясность клинических симптомов, я, тотчас-же после взятия бубонного сока для бактериологического исследования, ввожу в центр бубона один куб. сант. бактериофагного фильтрата. Никакой реакции не отмечается; больной проводит спокойную ночь, а она следующий день его состояние полностью меняется. Также, как и в первом случае, леченном одновременно с ним, он заявляет, что чувствует себя хорошо, только жалуется на слабость; бубон несколько увеличился в объеме, но уже нужно оказать сильное давление, для того, чтобы вызвать небольшую боль.

14-го—температура 38 утром, 39°—вечером. пульс ритмичный.

15-го температура—38° и 38,5°. Больной садится на постель.

16-го температура—37,2 и 37,4°. Я произвожу прокол бубона и извлекаю с большим трудом одну каплю кровянистой жидкости. На бульоне производится засев этой жидкости и одновременно заражается морская свинка; свинка остается здоровой, бульон стерильным. К этому, оставшемуся стерильным, бульону, я прибавляю эмульсию чумных палочек, с таким расчетом, чтобы получить ясную муть и наблюдаю прекрасно выраженную бактериофагию.

17-го июля, температура 36°—утром, и 36,4°—вечером. И с этого момента остается на нормальных цифрах.

Бубон вскрыт 25 числа и оказался не содержащим гноя. Полное заживление отмечается 5 августа.

Случай 4. А. Стель, 32 лет, официант на борту греческого корабля. 25 июля утром, в море, у него поднимается температура с ознобом, головной болью и опухолью в паховой области. 27-го утром, при прибытии в Александрийский порт, у больного температура 40°, глаза налиты кровью, язык сухой, коричневатый, резкая адинамия, может говорить лишь тихим голосом, пульс 120, аритмичный, в правой паховой области—бубон размером в грецкий орех.

В 16 часов я извлекаю сок из бубона для бактериологического диагноза, и, в виду ясности клинических симптомов, немедленно за этим ввожу в бубон один куб. с. бактериофагного фильтрата. Впрочем, бактериоскопическое исследование, посев и заражение животных подтверждают клинический диагноз чумы.

28-го числа, температура 39,2 и 39°. Бубон менее болезнен, общее состояние улучшается, но состояние сердечной деятельности требует введения камфоры и применения спартэиновой микстуры.

29-го утром, температура 39,6°, вечером—39,8; больной бредит, язык сухой, адинамия полная, пульс слабый—110 в минуту, с вы-

падением через каждые 3—4 удара. В 16 часов я произвожу вторую инъекцию в $1\frac{1}{2}$ кб. с. в центральную часть бубона.

30-го утром, температура— $38,2^{\circ}$; больной, состояние которого за день до этого сочтено безнадежным, чувствует себя лучше, бреда нет; вечером температура $39,2^{\circ}$, пульс 76, с выпадением через каждые 20—28 ударов.

31-го, состояние больного резко улучшилось, утренняя температура $37,1^{\circ}$, вечерняя 37° , пульс 80, без повышений, хорошего наполнения.

1-го августа, температура 37° и $37,5^{\circ}$. Общее состояние хорошее.

2-го августа, температура— $37,4^{\circ}$ —утром, $36,6^{\circ}$ —вечером. Больной, в остальном чувствующий себя хорошо, жалуется с вечера на болезненность в паховой области.

3-го августа, утром температура $36,8^{\circ}$; левая паховая железа припухшая, размерами с небольшой орех. Пункция бубона позволяет мне извлечь несколько капель сока; при прямой бактериоскопии обнаружены полинуклеары в большом количестве; и, изредка, биполяры; посевы на агар и бульон остаются стерильными. Морская свинка, которой впрыснуть 2 капли этого гноя, погибает лишь на 11-й день. Кровь свинки оказывается стерильной, но из селезенки выделена чумная палочка. В засеянный и оставшейся стерильным бульон, я добавляю эмульсию чумной палочки. Наступает бактериофагия с полным просветлением среды в 8-ми часовой срок.

Обращаю внимание на то, что обе инкуляции были произведены в правый бубон в левый бубон бактериофаг не вводился. Следовательно, обнаружение в левом бубоне бактериофага может объясняться лишь из правого бубона, с током крови. Впрочем, левый бубон рассосался чрезвычайно быстро; уже 8-го числа его обнаружение на ощупь было почти невозможным. Выздоровление наступило чрезвычайно быстро, без всяких осложнений; правый бубон рассосался постепенно за 15 дней¹.

Мои исследования, равно как и исследования других авторов, занимавшихся лечением бубонной формы чумы бактериофагом, показывают, что можно довести, практически, смертность при бубонной

¹. Врачи, имевшие дело с чумой, знают, с каким трудом получается заживление бубона и частоту при нем септических осложнений, доходящих до гангрены. Как видно из изложенной истории болезни, и как это отмечает Куви (Cuvy), лечение бактериофагом дает чрезвычайно быстрое заживление, не говоря о тех случаях, когда бубон целиком резорбируется.

чуме до нуля, если располагать бактериофагом высокой степени активности и применять его в ранней стадии заболевания.

Дорамбос (Dorembois), в Суэце, в 1927 г. применил в 8-ми случаях бубоной чумы бактериофага; к сожалению, он не имел в руках фага, преведенного через свежее-выделенную культуру чумной палочки. Из 8-ми случаев, он отмечает 7 выздоровлений и 1 случай смерти.

В Декабре в 1929 г. Куви (Couvy), убедившись в полной бесполезности применения противочумной сыворотки в тяжелых случаях этого заболевания¹, решается испытать лечение бактериофагом. Цитирую его работу:

„Убедившись в полной неэффективности классического лечения бубоной чумы, мы решили прибегнуть к применению бактериофага, выделенного из испражнений выздоровевших больных, доказавших свою вирулентность *in vitro* по отношению к культуре палочки Иерсена (Jersin).

„Бактериофаг был применен в виде инъекции или в самый бубон, или под кожу или эндовенозно.

Этот метод был нами оставлен специально для крайне тяжелых случаев или для агонировавших больных; он применялся после констатированной неудачи сывороточного лечения. Результаты нам кажутся заслуживающими внимания. В некоторых случаях, быстрота и эффективность действий бактериофага были поразительны. Нам пришлось лечить бактериофагом 21 больного, не считая больных, находившихся в коматозном состоянии с момента их доставки в госпиталь; все они были отобраны среди наиболее тяжело инфицированных, исход заболевания которых казался фатальным в непосредственном будущем. На это количество крайне тяжелых больных (21 человек) отмечается 15 выздоровлений, т. е. более высокий процент выздоровления, чем у больных со средней тяжестью инфекции, леченых сывороткой. Отметим, среди выздоровевших 2 случая септицемии (с биполярами, обнаруживаемыми в крови прямой бактериоскопией и положительной гемокультурой) и одного больного с первичной легочной чумой.

Некоторые из наших кривых как бы накладываются на те, которые были опубликованы Д'Эреллем в октябре 1925 г., несмотря

¹. Позволительно спросить себя, почему, во многих странах, еще продолжают применение противочумной сыворотки, которая не только не имеет никакого лечебного значения, не даже может принести вред вызванными ею у истощенных больных сывороточными явлениями. В Индии были проведены в большом масштабе опыты, в результате которых применение сыворотки совершенно оставлено, принимая во внимание абсолютную ее неэффективность.

на крайне неблагоприятные условия нашего опыта: поздно начатое лечение у глубоко инфицированных больных, находившихся, на первый взгляд в безнадежном состоянии. Специфическое действие бактериофага дебютирует резким падением температуры; иногда падение температуры наступает сразу на несколько градусов, даже в тех случаях, где оно не должно быть окончательным (даже в случаях, заканчивающихся смертью, является очень редким, чтобы введение бактериофага не сопровождалось значительным снижением температуры) ¹.

„Лишь только два раза понижение температуры следовало за небольшим термическим подскоком с явлениями шока, после интравенозной инъекции бактериофага, культивированного на пептонной воде:

Клинически, необходимо отметить, что общее состояние больного быстро улучшается, дезинтоксикационное действие чрезвычайно четко выражено, бредовое состояние и галлюцинации быстро исчезают, периадениты рассасываются, бубоны размягчаются и излечиваются в несколько дней. При лечении бубонной чумы фагом, мы не наблюдаем нескончаемых нагноений, в такой степени частых при других способах лечения.

Из моих наблюдений я вывожу заключение, что наилучший лечебный эффект получается при введении фагов в бубон и в зону периаденита при одновременном подкожном применении бактериофага. Интравенозный путь нам не кажется особенно показанным, за исключением септицемической формы чумы; по нашим наблюдениям, во многих случаях, где интравенозная инъекция привела лишь к временным ремиссиям, окончательное излечение было достигнуто подкожным применением бактериофага. В случае множественных бубонов введение бактериофага должно быть сделано в каждый из них в отдельности. Одновременное применение противочумной сыворотки не оказывает никакого влияния на действие бактериофага. В случаях 1, 2, 4, 5, бактериофаг оказался чрезвычайно активным, несмотря на то, что он был применен после оказавшегося абсолютно безрезультатным сывороточного лечения“.

Куви (Cuvy), впрочем, указывает, что, несмотря на достигнутый успех—примененные им бактериофаги не обладали максималь-

¹. Как мною всегда указывалось бактериофаг не является чудодейственным средством/и не может спасти больных, у которых образовавшиеся анатомические изменения достаточны для того, чтобы повести к смерти. Бактериофаг вызывает бактериофагию *in vivo* в той же мере и с той же интенсивностью, с какой он вызывает ее *in vitro*. Вот и все, что можно от него требовать.

но экзальтированной вирулентностью, объясняя это отсутствием соответствующего персонала и недостаточностью лабораторного оборудования.

Все-же, и при этих условиях, оказывается, что 124 случая чумы, леченной сывороткой, дали 65,3% смертности, тогда как 21 случай, отобранных среди наиболее тяжелых, казавшихся безнадежными, больных, дал смертность в 28,6%. Изложенное дает основание Куви (Cuvy) прийти к следующему заключению:

„Мы извлекаем, из наших наблюдений, произведенных в 1929 г., что этот метод заслуживает глубочайшего внимания и что, усовершенствованный путем применения бактериофага, обладающего максимальной вирулентностью, он вбудет состоянии изменить к лучшему прогноз при чуме“.

Эпидемия в Дакаре возникла и в 1930 г. Все больные в госпитале были лечены исключительно противочумной сывороткой. Смертность оказалась, как в предшествующий год, равной 66,3%.

В 1931 г. возникает новая эпидемия, но сывороточное лечение отброшено, и все больные подвергнуты лечению бактериофагом. За исключением 72 больных, попавших в больницу в агональной стадии, смертность на этот год оказалась равно 31%, считая в том числе 8 больных, погибших от интеркуррентных заболеваний или заболеваний, независимых от чумной инфекции, и где на вскрытии не удалось выделить чумных палочек. Если исключить эти случаи, то % смертности окажется лишь 26,5%.

Куви добавляет, что эти результаты безусловно могут быть улучшены применением более поливалентных рас бактериофага, чем те, которые были в его распоряжении. Следует обратить внимание на тот факт, что у ряда больных, обследованных Куви, после смерти на вскрытии не удалось выделить чумных палочек; следовательно, эти больные погибли при отсутствии жизнеспособных чумных палочек, от поражений, зависящих от действия эндотоксинов.

Куви рекомендует при лечении бубонной чумы инъекцию бактериофага в самый бубон, как это мною применялось в Александрии. При септицемической форме им рекомендуется интравенозная инъекция 3 кб. с., при легочной форме—также интравенозная инъекция и одновременно—пульверизация культур бактериофага с целью обеспечить прямой контакт со слизистой дыхательных путей. Он добавляет совершенно основательно, что эта пульверизация показана для применения с предохранительной целью у лиц, подвергающихся контакту с больными первичной легочной формой. С моей стороны я рекомендовал бы применять интравенозные инъекции в той технической модификации, на которые мною указано в соответствующем месте и вводит не 3 кб. с. но от 5 до 10 кб. с.; фага

это можно позволить себе без всякого риска, тем более, что в противоположность тому, что мы наблюдаем при брюшном тифе, где чрезвычайно резкая общая реакция после интравенозного применения является правилом, при чуме—общая реакция является слабо выраженной, а иногда даже и вовсе отсутствует. В противоположность тому, что можно было думать, продукты растворения бактериофагом чумной палочки являются менее токсичными, чем продукты растворения тифозной палочки. Я позволю себе еще раз рекомендовать следующее: для того, чтобы получить ясно выраженное терапевтическое действие—непременным условием является применение рас бактериофага, селекционированных по признаку их максимальной вирулентности, и с другой стороны, желательно, в результате соответствующего смешения, иметь в своем распоряжении по возможности поливалентную взвесь корпускулов, с расчетом вызвать бактериолитический процесс со всеми, без исключения штаммами патогенного микроба, который мы задаемся целью разрушить в организме больных. Затем, необходимо, чтобы культуры этого бактериофага были бы выращиваемы не за счет палочек, взятых из лабораторных коллекций, случайно, но за счет вирулентных штаммов, недавно выделенных от больных в самом начале заболевания. Это имеет чрезвычайно существенное значение: бактериальные штаммы, взятые наудачу или выделенные у больных в поздней стадии заболевания, уже могут быть заражены бактериофагом, т. е. могут быть штаммами,—носителями бактериофага, а мы видели из предшествующего изложения, что бактериофаги, находящиеся в симбиозе, мало по малу теряют свою вирулентность; если бактериофаг культивируется за счет симбиотического бактериального штамма, то получается, после лизиса, смесь двух бактериофагов—одного мощного и другого—слабого; затем, вирулентность мощного бактериофага мало по малу понижается, чтобы дойти до степени вирулентности бактериофага, существовавшего в симбиозе.

Для того, чтобы избежать этой опасности, я рекомендую культивировать бактериофаг за счет бактерий, выделенных у больных в самом начале заболевания, при появлении первых симптомов, что представляет гарантию получения ультра-чистых бактериальных штаммов.

13. АЗИАТСКАЯ ХОЛЕРА.

При изготовлении культур бактериофага, предназначенных для терапии холеры, следует руководствоваться следующими соображениями: штаммы вибрионов, за счет которых предполагается размно-

жать бактериофага, должны быть свежее-выделены от больных, находящихся в первоначальной стадии холерного приступа; расы бактериофагов должны быть отобраны среди наиболее мощных (вирулентность 1.000, кстати сказать, часто встречающаяся), изолированных из испражнений выздоравливающих в самом начале симптомокомплекса. Каждая из отобранных рас должна быть культивируема отдельно, но перед разливкой в ампулы следует смешать не менее 5 или 6 рас, с таким расчетом, чтобы иметь наибольшие шансы лизировать все штаммы вибрионов, могущих встретиться в начале заболевания ¹.

После предварительного изучения в госпиталях Калькутты условий естественного выздоровления при азиатской холере, мы приступили к опытам лечения искусственно вводимым в организм бактериофагом—в Пенджабе, где летом 27 г. вспыхнула тяжелая эпидемия холеры. Все эти опыты были проведены совместно с д-ром Маллоном (Malone) и д-ром Лаири (Lahiri), специально прикомандированными с этой целью ко мне правительством Британской Индии. Лечение наших больных проводилось в деревнях; бактериофаг был единственным способом терапевтического воздействия, т. к. больные оставались на месте, в своих хижинах, под наблюдением родственников, дававших им бактериофага, согласно нашим инструкциям. Нужно сказать, что, принимая во внимание потрясающую бедность туземцев, необыкновенную тесноту, царствующую в хижинах, отсутствие самого элементарного комфорта—наши больные находились в чрезвычайно тяжелых условиях. Что касается контрольной группы, то особые условия экспериментирования заставили нас придерживаться следующего метода.

¹. Не следует особенно озабочиваться тем, лизирует или нет взятый нами бактериофаг вибрионы, выделенные у больного в стадии выздоровления или у бациллоносителей: все эти вибрионы являются симбионтами или, иначе говоря, мутантами; все же произведенные до сегодняшнего дня наблюдения и вся эпидемиология холеры доказывают, что вибрионы—мутанты лишены какой бы то ни было болезнетворной способности. Я вернусь к этому вопросу, когда буду говорить об эпидемиологии холеры, но я считаю нужным настойчиво напоминать, что при изготовлении бактериофагов, предназначенных для терапии или профилактики, громадной ошибкой является: 1) использование для культивирования бактериофага штаммов вибрионов бактериофагоносителей, что фатально имело бы место при использовании штаммов, выделенных от больного в стадии выздоровления; 2) систематическое использование рас бактериофага, обладающих специфической активностью по отношению к вибрионам—мутантам, т. к. эти расы фагов мало вирулентны по отношению к ультра-чистым расам вибрионов, единственно представляющим эпидемический интерес и обнаруживающихся лишь в начале заболевания.

Из за фанатизма и враждебного отношения жителей к врачев-
ным мероприятиям, мы не могли отбирать больных, нам приходи-
лось каждый раз, когда мы узнавали о наличии холерного случая в
той деревне, в которой мы находились, запрашивать семьи, соглас-
ны ли они нам предоставить больного на лечение? При наличии
положительного ответа, мы применяли лечение бактериофагом, в
случае отрицательном—суб'ект включался в группу контрольных.
Это распределение подвергавшихся лечению отягощало статистику
лечения бактериофагом, т. к. семьи соглашались предоставить нам
больного лишь в том случае, когда считали его безнадежным.
В противоположном случае, они предпочитали не иметь дела с ев-
ропейцами, которые, по их религиозным воззрениям, являются не-
чистыми тварями. Всем нашим больным мы давали дозу в 2 кб. с. бакте-
риофага, разведенных в 20 кв. с. воды, в присутствии одного из нас.
Если первая доза извергалась вместе с рвотой, больному несколько
минут спустя давалась вторая доза; кроме того 5 кб. с. бактериофага
разбавлялись в $\frac{1}{2}$ стакане воды с указанием членам семьи—да-
вать питье больному чайными ложечками время от времени ¹⁾).

Контрольная группа лечилась сама, согласно принципов народ-
ной медицины, растительными настоями. Привежу полученные ре-
зультаты по деревням:

Вайгал, Пенджаб, 1.900 жителей:

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
15/VII	14	9	1	0
16/VII	1	1	8	1
17/VII	1	1	6	0
18/VII	2	1	2	0
	18	12	17	1

У всех леченных больных вибрион был изолирован из испраж-
нений, взятых до применения бактериофага. Четыре других случая,
представлявшие клинические симптомы холеры, но где бактерио-

¹⁾ Разумеется, нет никакого противопоказания к тому, чтобы увеличивать до-
зу бактериофага, принимаемого per os в этом отношении трудно указать на предел;
Дэвисон (Davison), например, давал ребенку за недельный срок до 2 литров шига-
бактериофага.

логическое исследование не дало положительных результатов, не входят в означенную статистику. Все четверо больных выздоровели.

Гавинди, Пенджаб, 450 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
14/VII	2	2	11	1
15/VII	3	1	1	0
16/VII	3	3	0	0
	8	6	12	1

До нашего прибытия в деревню, мы имели 9 случаев заболевания, из которых 8 закончились молниеносной смертью. По этой причине, испуганное население охотно согласилось на лечение. Состояние здоровья выздоровевших после приема бактериофага было проверено 2/VIII: все пациенты продолжали хорошо себя чувствовать.

Яман, Пенджаб, 2.500 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
15/VII	5	4	1	0
16/VII	4	2	5	0
17/VII	1	0	2	0
18/VII	0	0	1	1
29/VII	2	1	1	0
30/VII	2	2	1	0
	14	9	11	1

Больной, подвергшийся лечению бактериофагом, 18/VII погиб 2 часа спустя после приема первой дозы бактериофага. Все случаи выздоровления проконтролированы 6/VIII.

Ражиана, Пенджаб, 3.000 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
21/VII	13	-	5	0
22/VII	6	3	2	0
23/VII	4	4	0	0
	23	14	7	0

Чтобы получилось правильное представление о том, как относятся друг к другу группы леченных и контрольных больных, привожу обследование доктора Саида (Saida), который сопровождал нас 25/VII. Пять леченных больных—все представляют классические симптомы азиатской холеры, четверо из них представляли симптом анурии и были в состоянии коллапса. Среди 13 больных у двоих простая диаррея, но у них изолированы вибрионы (при очень хорошем общем состоянии: один из них даже на ногах), 11 остальных представляют характерные симптомы холеры, из которых трое анурию, а один находится в состоянии коллапса. Выздоровевшие осмотрены вторично 4/VIII.

Ляльпура, Пенджаб, 1.300 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
24/VII	8	1	4	1
25/VII	7	6	3	0
	15	7	7	1

Выздоровление проверено 9/VIII.

Навра, Пенджаб, 1.800 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
2/VIII	6	6	0	0
3/VIII	0	0	(6)2	0
	6	6	(6)	0

Мы вернемся к истории эпидемии в этой деревне в следующей главе. Что же касается лечения: холера вспыхивает 2/VIII после полудня. Всего насчитывается 6 случаев с промежутками между каждым из них в несколько часов; заболевшие все погибают в ту же ночь или же на следующее утро. Два новых случая имеют место в утро нашего прибытия. Четверо других больных обнаруживаются вечером того же дня. Они не подверглись обычному лечению, но пили воду из колодца, в который была налита культура бактериофага. Вот почему мы их не вводим в статистику леченных больных.

Асал-Сулейман, Пенджаб, 2.000 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
2/VIII	1	1	0	0
3/VIII	2	2	0	0
4/VIII	3	3	2	0
5/VIII	0	0	1	0
6/VIII	0	0	2	0
9/VIII	0	0	1	1
	6	6	6	1

Случаи выздоровления проверены спустя 15 дней.

Далькок, Пенджаб, 700 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
10/VIII .	4	3	1	0
11/VIII .	0	0	2	0
	4	3	3	0

Трое леченных больных были найдены в состоянии полного здоровья 10/VIII.

Кот Андерсон, Пенджаб, 800 жителей.

Д а т а	К о н т р о л ь		Лечение фагом	
	Число случаев	Число смертей	Число случаев	Число смертей
21/VIII .	7	4	1	0
22/VIII	9	3	0	0
23/VIII	4	1	1	0
24/VIII .	1	1	1	0
25/VIII	3	2	1	0
	24	11	4	0

Среди четырех леченных двое были в совершенно безнадежном состоянии, один из них с полной анурией в течении 48 часов. Результаты лечения проверены 31/III. Мы приводим в нашей статистике только тех больных, у которых холерный вибрион выделен в порции испражнений, взятой до лечебного применения бактериофага. Те случаи, при которых не получено бактериологического подтверждения холерной инфекции, нами не упомянуты; все эти больные выздоровели; что касается контрольной группы, то там мы довольствовались одним лишь клиническим диагнозом. Нам кажется, что таким образом мы добивались наибольшей рельефности полученных результатов, обращая против себя как выбор больных, подлежащих лечению, так и точность поставленного диагноза. Несмотря на это, среди 124 случаев, принадлежащих к контрольной группе, смертность равнялась 78, т. е. 62,9%; для случаев же, леченных бактериофагом, мы получили на 74 больных 6 смертных исходов, т. е. 8,1%. Смертные случаи могут быть разбиты на следующие три группы:

26 леченных в течение первых шести часов болезни—0 смертей.

Сорок один леченных от 6 до 24 часов после начала болезни —5 смертей—10,2%.

Семь леченных 24 часа после болезни—1 смертный случай—14,3%.

После этих опытов, в Британской Индии созданы 2 специальные лаборатории, вырабатывающие в большом масштабе бактериофага для лечения и профилактики холеры. Полученные результаты приближаются к нашим.

Не имея возможности проводить здесь всех случаев применения противохолерного бактериофага в Индии, я лишь укажу на

опыт Моррисона, интересный не числом наблюдений, сравнительно небольшим, но потому, что дело идет о деревне, где холера никогда не имела места. Такого рода случай интересен тем, что он наглядно демонстрирует, чего можно добиться с помощью рекомендуемого нами способа в условиях дикой эпидемической почвы и при обстоятельствах, вызывающих непреодолимые затруднения для всякого другого способа лечения.

С другой точки зрения, он дает некоторое представление о нравах индусов в области гигиены.

Якрем представляет собой деревню в 750 жителей, расположенную в горной области Хаси. 3/X—29 г. 11 человек из этой деревни спускаются на низменность Силет в поисках работы, но, ввиду свирепствовавшей там холеры, проводят лишь ночь в зараженной деревне и возвращаются к себе. К моменту их возвращения в Якрем, старшины деревни воспрещают им вход в нее и производят над ними церемонии разбития яйца, чтобы знать не привозят ли они с собой злого духа холеры, „Кахлям“, который имеет шесть рук, но лишен ног и может попасть в деревню, лишь взгромоздившись на спину горца. Указанная церемония дала благоприятные результаты, и нашим сельчанам разрешено возвращение в деревню. По возвращении, они едят в обществе сельчанина пищу, сваренную два дня тому назад в деревне, где они провели ночь; этот сельчанин заболевает в ночь и погибает при явлении диареи и рвоты. Так как церемония разбития яйца доказала, что злой дух холеры не был принесен с собой из долины, то умерший не погребен немедленно, без торжественных церемоний, как это имело место с холерными трупами, но подвергнут сожжению. Погибший считался среди сельчан человеком богатым и на погребальное пиршество явились многочисленные гости. С утра следующего дня, 12/X, началась эпидемия. В означенной деревне население пользуется водой из многочисленных мелких родников, общих колодцев нет, равно нет и мух; следовательно, нет и мух; следовательно, нет обычных причин рассеивания вибрионов; но жители имеют обыкновение распределять пищу в медной посуде, которая служит одновременно ночным горшком. Тут причина распространения заразы совершенно ясна, так как часть посуды, применявшаяся для угощения приглашенных, раньше исполняла при больном другое назначение и после этого просто была промыта водой.

Моррисон узнал о протекавшей эпидемии от миссионера, случайно пришедшего в деревню, для того чтобы посетить преподавателя школы, который был христианином. Сейчас же он посылает на место врачей Щодюри и Рахмана, которые прибывают в Якрем

18/X. Ко времени их приезда насчитывалось 77 случаев холерных заболеваний, из которых 57 закончились смертью. Все новые случаи заболеваний подверглись лечебному воздействию бактериофага. Привожу полученные данные: 65 случаев леченных бактериофагом — 7 смертных исходов, иначе говоря смертность 10,8%. 78 случаев не леченных, среди них смертность 63—т. е. 80,8%.

Моррисон указывает, что никакое другое лечебное вмешательство, кроме дачи бактериофага, в этих случаях не могло быть применено. Он приводит в качестве иллюстрации трудностей лечения и тяжести общей обстановки, случай с человеком, который, поправившись после приема бактериофага; больной, оставленный всеми и будучи голодным, встал для того, чтобы приготовить себе пищу. Он потерял сознание и упал у очага, где его и нашли мертвым.

Можно было бы предположить, что лечение бактериофагом было применено в той стадии эпидемии, которая давала уже меньшую смертность. Но этому противоречит то, что, в тот же период, из 13 человек, отказавшихся от приема бактериофага, 12 погибли, что дает смертность в 92,3%, тогда как смертность у леченных фагом равняется лишь 10,8%.

Ашешов (Asheshoff), при лечении холеры в госпитале Патна, применяет бактериофага интравенозно, вводя 5 кб. с. взвеси фага в двух литрах физиологического раствора. На 150, леченных подобным методом, случаев, среди которых 78 находилось в состоянии коллапса, 147 выздоровело, что дает смертность равную 2:100.

У меня получается общее впечатление, что при всех тех инфекционных болезнях, где до нынешнего времени были произведены попытки лечения бактериофагом, полученные результаты позволяют утверждать возможность вызвать экспериментально, при помощи этого метода, естественный процесс выздоровления.

12. ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЖИВОТНЫХ.

Я не останавлиюсь на этом вопросе, но считаю необходимым упомянуть о нем для полноты изложения.

Начиная с 1919 года, мною был применен бактериофаг при ряде различных заболеваний животных, например, тифоиде пернатых. Смертность, равнявшаяся, при этом заболевании, до применения бактериофага, 95% пораженных животных, была сведена при помощи бактериофага до 5%. Подобные же опыты были повторены рядом авторов, в том числе и Крамером (Kramer) с аналогичными результатами.

В следующем параграфе мы остановимся несколько дольше на

опытах профилактики геморрагической септицемии рогатого скота, проведенных в сотрудничестве с Лелуэ (Le Louet). Последнему автору удалось в ряде случаев провести лечение означенной болезни, всегда смертельной в условиях Индо-Китая. Проведение опыта затруднялось кратковременностью течения болезни, длящейся обычно несколько часов: надо быть на месте в самый момент возникновения первых симптомов. Лелуэту, несмотря на это, удалось провести лечение в двадцати случаях; во всех этих случаях животные лежали на боку и находились, к моменту вмешательства, в чрезвычайно тяжелом состоянии, близком к агональному. Всем им было введено по 10 куб. сантим. гипервирулентного в отношении *Pasteurellae bovis* бактериофага эндовенозным путем; несколько часов спустя—животные смогли встать на ноги, а на следующий день—оказались вполне выздоровевшими.

Лечение бактериофагом было проведено Мистралем (Mistral) при чуме свиней (C. R. S. Biologie, 1929, t. 101, p. 628), согласно указанию автора, с полным успехом.

Известно, что при этой болезни свиней—первичным агентом заболевания является фильтрующийся вирус, а выходным микробом—бактерия из группы пастерелл или, еще чаще, сальмонелл (*Salmonella suispestifer*). Мистраль применял в своих случаях очень вирулентного бактериофага против *Salmonellae suispestifer*.

Укажем, наконец, что в Итальянской армии—мыт лошадей лечится введением суспензии бактериофага, вирулентного против мытного стрептококка. Тотчас же, после первых случаев мыта, к воде корыт, из которых поят лошадей, прибавляется взвесь бактериофага; согласно указаниям итальянских авторов, результаты оказались блестящими ¹.

13. АНТИТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ, КОРРЕЛЯТИВНОЕ БАКТЕРИОФАГИИ IN VIVO.

Позволю себе лишь вскользь упомянуть о факте, которому, несмотря на его очевидность, пока, при существующем положении наших знаний, не может быть дано исчерпывающего объяснения.

Уже при первых опытах лечебного применения бактериофага при бациллярной дизентерии, вызванной бациллом Шига-Крузе, чрезвычайно, как известно, токсичном, я констатировал, что симптомы токсемии исчезают чрезвычайно быстро, в связи со введением больному бактериофага. То же самое мною установлено в от-

¹ Этот прием аналогичен рекомендованным мною, при тифоиде пернатых и при эпидемиях азиатской холеры, как это будет видно из дальнейшего изложения.

ношении брюшного тифа, холеры и чумы; многие авторы подтвердили постоянство этого явления; Куви даже специально призывает внимание к этому феномену при чуме человека; а priori, следовало бы предположить обратное, а именно, что быстро наступающее, под воздействием бактериофага, растворение бактериальных тел, должно было бы повести за собой наводнение организма эндотоксинами и повлечь за собой картину интоксикации; однако, мы наблюдаем диаметрально противоположное. Как можно было бы объяснить антитоксическое действие, производимое бактериофагом? Мне кажется возможным лишь одно допущение: сецернируемые бактериофагом лизины, действуя на бактериальную клетку, ведут к глубокому расщеплению ее протоплазмы и связанного с ней эндотоксина, денатурируя этот последний вплоть до полной потери им токсичности.

14. ТЕХНИКА ИЗГОТОВЛЕНИЯ БАКТЕРИОФАГА ДЛЯ ЛЕЧЕБНОГО ПРИМЕНЕНИЯ.

Большинство бактериологов считает чрезвычайно легким дело выработки бактериофага, предназначенного для терапевтического применения. С первого взгляда оно так и кажется: что может быть легче того, как вызвать бактериофагию в бактериальной эмульсии? А в дальнейшем—достаточно провести через бактериальный фильтр образовавшийся прозрачный лизат. Некоторые любители упрощений даже считают возможным заменить фильтрацию добавлением к лизату антисептических веществ; а затем—остается только распределить полученный препарат по любым сосудам (бывали случаи, что бактериофаг распределяли в бутылки, закрытые обычными пробками, которых даже не давали себе труда простерилизовать).

Однако, элементарный контроль активности в таких условиях изготовленного бактериофага был бы достаточен для того, чтобы убедиться в отсутствии, спустя несколько дней после его изготовления, хотя бы единого бактериофажного корпускула в подобном лизате!

В различных капиталистических странах организовался ряд коммерческих обществ, изготавливающих, приблизительно подобным путем, „лечебные бактериофаги“, и в любой аптеке можно найти эти, так называемые, „бактериофаги“ различных марок. Я обследовал все эти препараты и не нашел ни одного, который представлял бы хотя бы некоторую терапевтическую ценность: в одних из них можно было установить наличие слабо вирулентных бактериофагов, способных атаковать очень небольшое количество бактериальных штаммов, а в других—не удавалось обнаружить и следа бактериофагов.

С 1926 года в Германии возникла первая коммерческая лаборатория, а в 1929 году и в других странах (Франция, Соединенные Штаты) появились в продаже подобного рода препараты; в результате чего, терапевтический метод, изученный и рекомендованный мной, находился под угрозой полной дискредитации: врач, прописывающий препарат, носящий на этикетке название бактериофага, и убеждающийся в полном отсутствии какого бы то ни было эффекта от него, вправе заключить о непригодности самого метода.

На самом же деле, объяснение заключается в том, что примененный врачом препарат был бактериофагом только на этикетке, а в действительности—представлял собой чистую водицу; положение получается аналогичное тому, как если бы врачу выдавали, под наименованием противодифтеритной сыворотки, препарат, содержащий одну антитоксическую единицу в кубическом сантиметре, или даже нормальную сыворотку лошади. Существуют законы, которые регулируют выпуск противодифтеритной сыворотки, но нет правил, которые были бы установлены для выпуска, так называемых, „бактериофагов“.

Мне оставался лишь единственный способ реагирования для того, чтобы спасти метод от неизбежной дискредитации: я основал в Париже, в 1928 году, лабораторию для изучения и изготовления терапевтических бактериофагов, где, под моим руководством, трое бактериологов—доктора Сертич, Булгаков и Мазюр посвящают все свое время изысканиям, связанным с проблемой бактериофагии¹.

Резюмируя опыт последних лет, я перечислю здесь ряд приемов, позволяющих получить суспензии бактериофагов, могущих быть примененными для целей терапии и профилактики.

Выделение рас бактериофагов. Исходя из патологического материала, полученного от выздоравливающих, а в некоторых случаях—из различных проб сточных вод, необходимо выделить, а затем изучить все стороны сотни различных рас бактериофагов для того, чтобы смочь выбрать те, которые обладают нужными свойствами для получения, при соответствующих заболеваниях, практического эффекта; я предупреждаю заранее, что подобные расы являются сравнительной редкостью.

Укажу на конкретный пример в отношении тифозных бактериофагов. Достаточно бросить взгляд на таблицу, где приводятся типы тифозных фагов (гл. III, § 15), чтобы убедиться в том, что не все фаги, помещенные в таблице, могут иметь терапевтическое зна-

¹ Все бактериофаги, применяемые в лечебных учреждениях города Парижа, изготовлены этой лабораторией.

чение; следует применять только те, которые удваивают количество корпускулов в 10-ти минутный срок (следовательно, лишь наиболее вирулентные).

Чтобы дать представление о длительности и кропотливости этих изысканий, достаточно будет указать, что Сертич и Булгаков были вынуждены изучить всесторонне 300 различных рас тифозных фагов, чтобы придти к отбору одной единственной расы бактериофага, могущей быть примененной при лечении брюшного тифа. Разумеется, то же самое касается и всех остальных патогенных бактерий.

Что касается кишечной палочки, то нами изучено свыше 1000 рас coli-фагов и необходимо изучить еще множество их для того, чтобы обладать препаратом, представляющим терапевтическую ценность во всех случаях, где возбудителем заболевания является этот микроорганизм. Задавшись целью приступить к терапии стрептококковых заболеваний помощью соответствующего фага, мы за последние два года подвергли изучению более 200 рас стрептофагов, и я еще не считаю, что обладаю материалом достаточной эффективности для того, чтобы приступить с ним к опытам терапии. Когда лаборатория находится в обладании большого количества хорошо изученных рас фагов, необходимо провести, уже среди них, целую серию последовательных селекций.

Вирулентность. Первый отбор заключается в том, чтобы селекционировать наиболее вирулентные расы. Если речь идет о тифозных фагах, например, то следует выбирать только те расы, которые удваивают количество корпускулов в десятиминутный срок. Я уже указал в предыдущем тексте, но считаю нужным еще раз подчеркнуть это обстоятельство: единственным критерием вирулентности бактериофага является скорость его размножения; основываться для суждения о вирулентности на количественном подсчете корпускулов, находящихся в наличии в данной бактериофажной суспензии (что устанавливается очень легко методом последовательных разведений), представляет собой вопиющую ошибку: количество корпускулов фага и его вирулентность могут ничего общего не иметь между собой.

Следует отбирать расы, вирулентные изначально, с момента своего выделения. Мы убедились в том, что в отношении ряда рас—есть возможность резко повысить, путем последовательных пассажей *in vitro*, вирулентность слабо активного вначале бактериофага, но практика показала нам, что для целей терапии желательно преимущественно использовать лишь те расы, которые обладают, с самого же начала, максимальной вирулентностью.

Амплитуда вирулентности. По отношению к некоторым бактериальным видам (дизентерийной палочке Шига-Крузе, например) все расы бактериофагов, активные по отношению к одному штамму, являются действенными и по отношению ко всем остальным. Но и в этом случае, я бы рекомендовал для терапевтического применения утилизировать смесь различных рас бактериофагов, из которых каждая должна обладать максимальной вирулентностью. Когда же имеешь дело с бактериальными видами „гетерогенными“ по отношению к бактериофагу, т. е. с такими видами, некоторые штаммы которых поддаются действию определенных фагов, а другие—совершенно к ним нечувствительны—этот способ действия является обязательным. В подобных случаях необходимо произвести ряд последовательных селекций, для чего нужно обладать достаточным числом различных штаммов соответствующих бактериофагов, могущих оказать воздействие на любой из имеющихся в наличии штаммов.

Если некоторые из штаммов бактерий все же продолжают не поддаваться воздействию бактериофага, то нужно искать новые расы бактериофагов для восполнения этого пробела.

Терморезистентность. Мы знаем, что в ряде случаев бактериофагные фильтраты прорастают, спустя некоторое время, вторичными культурами даже в тех случаях, когда они находятся в запаянных ампулах. Разумеется, что препарат, содержащий вторичные культуры, не может быть применен на больных.

Долгое изучение этого вопроса показало мне, что единственным способом, позволяющим наверняка избежать вторичных культур, является тиндализация ампул, содержащих бактериофага, путем троекратного прогревания в водяной бане при 57° — 58° Ц. три дня подряд, по одному часу. Для безболезненного (в смысле сохранения активности фага) проведения подобной операции, необходимо, чтобы бактериофагные корпускулы могли бы выдержать ее, ничего не теряя из своей жизнеспособности и вирулентности. Многократные контроли позволили мне убедиться в том, что добиться подобных результатов, можно лишь имея в своем распоряжении фагов, способных выдержать часовое нагревание при температуре, минимум в 68° . Следовательно, нужно произвести еще третью селекцию среди отобранных рас и оставить для практического применения только те из них, которые выдержат эту последнюю пробу. Часто случается, что бактериофаг, выдающийся по всем своим остальным свойствам (вирулентность, диапазон действия) не обладает достаточной терморезистентностью: тогда можно попробовать приспособить его к постепенно повышающимся температурным воздей-

ствиям (в некоторых случаях, разобранных мною подробно в главе о приспособляемости бактериофага, удастся полностью достигнуть желаемых результатов).

Жизнеспособность. На практике, бактериофаги, предназначенные для лечебного применения, не во всех случаях утилизируются тотчас же после изготовления. Возможно, что от момента изготовления до момента применения может протечь ряд месяцев; следовательно, необходимо, чтобы расы, из которых состоит селекционированный бактериофаг, обладали бы жизнеспособностью, простирающейся на двухлетний срок. Из наблюдений, сделанных в моей лаборатории, явствует, что повышение резистентности по отношению к температуре сопровождается повышением жизнеспособности корпускулов фага.

Бактериальные штаммы. Для того, чтобы выращивать бактериофагов, необходимо пассировать их, проводить через бактериальные культуры. Фактором огромного значения является выбор соответствующих культур; опыт показал мне, что наилучший терапевтический эффект дают бактериофаги, размножающиеся за счет штаммов, свежее-выделенных из организма при соответствующих заболеваниях и наименьшее число раз пассированных на искусственных питательных средах. Ввиду того, что являлось бы затруднительным выделение от больных еженедельно или даже ежемесячно нужных бактериальных штаммов, мне пришлось прибегнуть к следующему приему: потребные штаммы микробов выделяются из патологических продуктов (или прямой гемокультурой) и засеиваются в литр питательной среды; после инкубационного срока, равного нескольким часам, слегка опалесцирующая среда распределяется по ампулам, емкостью от 1 до 2 куб. сант.; ампулы запаиваются и помещаются в ледник. Каждый раз, когда необходимо иметь культуру соответствующих бактерий, микробы расплаживаются путем посева одной из этих ампул и, таким образом, обеспечивается работа со штаммом, испытавшим ограниченное количество пассажей на искусственных питательных средах.

Необходимо иметь не менее дюжины штаммов различного происхождения для каждого вида бактерий. В моей лаборатории, мы коллекционируем штаммы, происходящие из самых различных стран, с расчетом иметь возможно большее количество вариантов.

Расы бактериофагов. В начале моих изысканий я роздал ряду бактериологов образцы одного и того же Шига-бактериофага. Через несколько лет, я затребовал от них тех же самых бактериофагов и убедился в том, что их свойства чрезвычайно различались как друг от друга, так и от той первичной расы, от которой

они исходили и которая мною была сохранена. Следовательно, необходимо допустить, что в результате последовательных культур *in vitro*—первоначальные свойства бактериофагов могут видоизменяться. Для того, чтобы избежать этого, я сохраняю расы селекционированного бактериофага таким же самым образом, как сохраняю бактериальные штаммы: я изготавливаю по 1000 ампул бактериофажной суспензии, исходя из каждой отобранной расы; эти ампулы сохраняются у нас на леднике. Таким образом, я имею возможность вызвать, в любое время, бактериофагию с помощью корпускулов фага, которые испытали менее двух или трех пассажей *in vitro*.

Изготовление бактериофага, годного для терапевтического применения. Мы должны иметь в своем распоряжении типичные бактериальные штаммы, претерпевшие возможно меньшее количество пассажей на искусственных питательных средах и, с другой стороны, расы селекционированных бактериофагов, обладающих, одновременно, максимальной вирулентностью, достаточной терморезистентностью и длительной жизнеспособностью; смесь их должна обеспечить возникновение бактериофагического процесса в микробных эмульсиях всех штаммов бактериального вида, на который нам предстоит воздействовать. Остается лишь наладить массовое производство суспензий бактериофага для практического применения.

Мы производим засеваы в литровые колбы (из стекла Рутех); в качестве питательной среды можно применить обычный мясопептонный бульон, РН которого должен быть не очень высок: это имеет значение для сохранения жизнеспособности бактериофага (РН 7,3—7,4 является, обычно, наиболее подходящим).

Для интравенозного применения бактериофага (бактериофаги: тифозный, чумной, стрептококковый—при септицемиях)—нужно применять препарат, полученный в результате бактериофагии, протекавшей в среде, не содержащей пептонов¹.

Наилучшей средой в этом смысле является жидкость, содержащая в литре воды 5 грамм хлористого натрия и от 10—15 грамм дрожжевого экстракта, изготовленного в Германии и продаваемого

¹ Я полагаю, что страх пептонного шока является чрезвычайно преувеличенным: максимальная доза бактериофага, вводимого интравенозно, равняется 10 куб. сант.; это количество мясопептонного бульона содержит лишь 5 сантиграмм пептона, т. е. количество, явно недостаточное для того, чтобы вызвать самый легкий пептонный шок (известно, что нужно не менее 1 дециграмма на кило живого веса у собаки для получения пептонного шока).

под коммерческим наименованием Vitam в Европе и Savita—в Америке. Подобная жидкость не содержит следов пептонов или протеиновых веществ; к несчастью, жизнеспособность бактериофажного корпускула в средах, не содержащих пептонов, резко понижается и, следовательно, среда эта является подходящей только для бактериофагов, предназначенных для интравенозного применения.

Никогда не следует вызывать бактериофагического процесса, воздействуя на одну и ту же эмульсию микробов различными расами бактериофагов, но допустимо смешивать различные штаммы бактерий; в пример приведу изготовление бактериофага, предназначенного для лечения брюшного тифа. В нашем распоряжении имеется 6 селекционированных рас бактериофагов, о которых шла речь выше; обозначим их цифрами 1, 2, 3, 4, 5, 6. С другой стороны, мы имеем 12 штаммов *b. Typhi ab dominali*; а, b, c, . . . k, l; а и b чувствительны по отношению к первому, с и d—по отношению ко второму и т. д. Возьмем сперва 12 колбочек (содержащих, каждая, по 100 куб. сант. стерильного бульона), засеем каждую колбу одной каплей культуры; в первую колбочку засеем штамм а, во вторую—штамм b и т. д.; поместим их в термостат при 37°.

Спустя 16 часов возьмем новых 6 колб, содержащих по одному литру стерильного бульона; прибавим к первой колбе, при помощи Пастеровской пипетки с шарообразным расширением, достаточное количество культур а и в для того, чтобы добиться легкой опалесценции среды (совершенно излишне производить точный подсчет количества бактериальных тел), а затем прибавим содержимое ампулы, емкостью в 1 куб. сант., бактериофага № 1. Во вторую колбу прибавляются соответственно штаммы с и d с добавлением бактериофага № 2 и т. д. Все шесть колб помещаются в термостат при 37°.

Согласно общеизвестной схеме бактериофагии, среда мало по малу начинает мутнеть (вот почему совершенно излишним является точный подсчет бактериальных тел в начале опыта), а затем наступает явление прогрессивного растворения бактериальной эмульсии, за которым следует просветление среды. На следующее утро среда абсолютно прозрачна и готова для фильтрации через бактериоудерживающую свечу. В тех случаях, когда фильтрация не может быть осуществлена незамедлительно, колбы с бактериолизатами могут сохраняться на льду в течение ряда дней.

ФИЛЬТРАЦИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО АМПУЛАМ ¹.

Эта операция является чрезвычайно деликатной, т. к. необходимо, чтобы она протекала в асептических условиях. Мною придуман аппарат, который позволяет проводить операции фильтрации и разливки по ампулам в один прием и в таких условиях, которые делают невозможным бактериальное загрязнение. Я не считаю нужным подробно описывать этот аппарат, но я сочту приятным долгом дать все необходимые разъяснения соответствующим институтам СССР, которые захотели бы изготавливать в массовом масштабе бактериофага ².

Разумеется, необходимо перед фильтрацией слить в общую колбу селекционированные расы бактериофага для того, чтобы иметь в каждой ампуле смесь поливирулентных бактериофагов.

Ампулы, запаянные на пламени, погружаются в водяную баню, установленную на 57°–58°, где они остаются в течении часа (считая с момента стабилизации температуры). Та же самая операция повторяется на следующий и третий день; в промежутках между прогреваниями ампулы оставляются в термостате при 37°. Затем ампулы сохраняются в течении 8 дней при комнатной температуре и подвергаются проверке в специальном аппарате, который позволяет констатировать малейшее помутнение среды; подозрительные, в смысле наличия помутнения, ампулы выбраковываются ³.

При применяемой нами технике количество проросших ампул не превышает одной на тысячу.

Затем, берется на выборку определенное количество ампул, в которых проверяется качество бактериофажных корпускулов, должныствующих обладать максимумом вирулентности и количество которых должно соответствовать раз навсегда установленному для каждой расы бактериофага стандарту; „производственный листок“

¹ Ампулы должны быть из неотдающего щелочь стекла, иначе, благодаря изменению pH, бактериофаг может быть разрушен. Мы разливаем в ампулы, емкостью в 2 куб. сант., препарат, применяемый per os, в 5 и 10 куб. сант.—препараты, предназначенные для истилляций и инъекций; наконец, в 50 куб. сант. ампуллы—пиофатов, предназначенных для хирургических целей и интестифагов—для профилактики кишечных инфекций („бактериофагирование“ источников водоснабжения при холере, брюшном тифе).

² Тифлисский Бактериологический Институт будет располагать в ближайшем будущем крупным производственным отделом, предназначенным изготовлять в широком масштабе бактериофага для целей терапии и профилактики.

³ В моей лаборатории помутневшие ампулы подвергаются бактериологическому исследованию, т. к. наличие в фильтрате постороннего микроба является доказательством дефекта фильтрующего приспособления.

сопровождает каждую серию бактериофага при прохождении всех манипуляций, начиная от засева колб до окончательного контроля; на этом листке все детали производимых операций указаны. Каждая серия бактериофага снабжена порядковым номером. Таким же номером отмечается и каждая коробка бактериофага, предназначенного для практического применения. Одна коробка каждой серии сохраняется в лаборатории для последующего контроля. Такова схема операций, являющихся необходимыми при изготовлении бактериофагов для лечебного применения, обладающих нужной эффективностью.

Как видно из изложенного, бактериофаги соответствующего качества могут быть изготовлены только в специализированных лабораториях, состоящих из двух секций: отдела научного и отдела производственного.

Я надеюсь, что все меньше будет иметь место „импровизированное“ изготовление бактериофагов для терапевтических целей. Во всяком случае, врач должен иметь представление о том, что изготовление бактериофага для лечебного применения обставлено некоторыми трудностями и должно происходить в специальных квалифицированных лабораториях.

Перейдем к роли врача, который получил в свое распоряжение соответственным образом изготовленного бактериофага; для того, чтобы рассчитывать на получение требуемого терапевтического эффекта, нужно бактериофага применять *lege artis*.

Ранее всего необходимо, чтобы бактериофаг был бы применен настолько возможно ранее, ближе к начальному периоду болезни (прежде, чем, смертельные сами по себе, необратимые патологические изменения тканей и органов успели бы возникнуть). Я считаю необходимым настаивать на этом моменте, т. к. целый ряд врачей применяет бактериофага тогда, когда все остальные терапевтические мероприятия не увенчались успехом; такого рода терапевтический подход нерационален, т. к. бактериофаг представляет собой начало, специфически воздействующее исключительно на микроба, но лишенное способности повести к излечению наступивших органических изменений. Необходимо избрать такой путь введения бактериофага, который обеспечивает возможно интимный контакт между ним и подлежащим воздействию микробом. Наконец, необходимо, ранее всего, чтобы примененный бактериофаг обладал вирулентностью по отношению к тем микробам, которые находятся в организме больного. Когда дело касается заболевания, бактериологический диагноз которого может быть установлен с легкостью (как например—чума, холера, брюшной тиф),—никакого особого затрудне-

ния не возникает; но когда речь идет о заболеваниях таких, как летняя диаррея или даже банальный дизентерийный процесс у детей или взрослых, или когда речь идет о хирургических инфекциях — бывает трудно в каждом данном случае иметь своевременную и точную лабораторную диагностику. Для этих нозологических форм мною селекционированы десятки рас бактериофагов, активных, скажем, в отношении ряда кишечных микроорганизмов. Такая смесь названа мною интестифагом.

С другой стороны, под именем пиофага мною составлена смесь бактериофагов, действенных по отношению к целому ряду возбудителей нагноительных процессов.

Наконец, вот еще одно огромное преимущество, которое представляет терапия помощью бактериофага: бактериофаг, воздействующий лишь на бактериальные клетки, может быть вводим в макроорганизмы в любом количестве ¹.

Полная безвредность приема бактериофага для человека и животных дает возможность поручить его основное применение любому, даже мало квалифицированному лицу. Я позволю себе указать, что в СССР можно было бы повести борьбу, с помощью бактериофага, против такого губительного заболевания, каким являются летние детские поносы.

¹ Американский бактериолог Дэвисон в 1923 году применил [за 7 дней около двух литров бактериофага анти-Шига в случае дизентерии у семилетнего ребенка, не отметив ни малейших вредных последствий.

Г Л А В А VI.

Контагиозность выздоровления.

РАЗДЕЛ I. БАКТЕРИОФАГ У НОРМАЛЬНЫХ ИНДИВИДОВ ¹.

В кишечнике младенца, при рождении, невозможно обнаружить присутствия бактериофага; у человека он появляется между третьим и седьмым днем жизни, по всей вероятности, в результате попадания в его пищеварительные органы кишечной палочки—носителя фага. У собак и цыплят он появляется ранее: из некоторых опытов явствует, что он может быть обнаружен у этих животных на второй день жизни.

Согласно опытам, осуществленным на животных (лошади, куры, собаки) и несмотря на то, что случайное попадание различных бактериофагов через пищеварительный тракт должно быть регулярным явлением, оказывается, что одна и та же раса фага беспрельно наличествует в кишечнике. Все те расы, которые заглочены случайно или в результате эксперимента, исчезают из кишечника в срок от двух до четырех дней, кроме тех случаев, когда одновременно с ними проникают в кишечник бактерии, чувствительные к действию соответствующих фагов. В этом последнем случае имеет место процесс бактериофагирования; корпускулы вторично проникших в организм рас фага размножаются и пребывают столь долго в кишечнике, покуда в него попадают чувствительные к этому фагу бактерии. Но спустя несколько дней после исчезновения чувствительных микробов—исчезает и вторично попавшая в кишечник раса фага.

У человека случайное обстоятельство позволило установить постоянное наличие основной для данного индивидуума расы бактериофага и исчезновение вторично добавленных рас: Сертич изо-

¹ Наблюдения и опыты, на которых базируются изложенные в этой главе заключения, опубликованы полностью в моем труде, вышедшем на французском и английском языках под названием „Le Bacteriophage et son comportement“.

лировал ее собственного кишечного содержимого чрезвычайно характерную расу колифагов: эта раса сецернирует в избытке лизин, образующий вокруг негативной колонии „ореол“ стертого лизиса; проверяя свое кишечное содержимое систематически, в течении последних пяти лет, этот автор всегда обнаруживал у себя все ту же своеобразную расу колифага в беспримесном виде, несмотря на то, что им в порядке эксперимента неоднократно были заглатываемы другие расы колифагов. Пример Сертича показывает, что в кишечнике каждого человека, каждого животного—существует раса бактериофагов, которую можно квалифицировать, как основную; эта раса, по всей вероятности, первой поселилась в кишечнике данного индивидуума и пребывает в кишечном просвете в течении всего существования особи.

Но мы убедились в том, что каждая раса бактериофага обладает индивидуальными свойствами, среди которых следует отметить особо свойство приспособляемости, резко варьирующее от расы к расе. Если фаг обладает резко выраженным свойством приспособляемости, то это ведет к защите носящего его индивидуума против инфекции: мы убедились из предшествующего изложения, на ряде примеров, в том, что процесс естественного выздоровления имеет в своей основе, главным образом, быстрое приспособление кишечного фага к воспроизводству бактериофагического процесса среди патогенных микробов, пытающихся заполнить организм. Заметим, что т. н. наследственная устойчивость по отношению к инфекционным заболеваниям может быть обязана особой приспособляемостью основного бактериофага, поселившегося в кишечнике в первые дни жизни и который может, вследствие случайной контаминации, происходить от родителей (от кормящей матери, главным образом); мною высказано предположение о целесообразности „заражения“ ребенка, с момента рождения, кишечной палочкой, носителем селектированного бактериофага (*Coli porteur d'un bacteriophage sélectionné*), обладающего наиболее развитой приспособляемостью; подобного фага можно было бы изолировать от пожилых субъектов, оказавшихся за свою жизнь особо устойчивыми по отношению к инфекционным заболеваниям. Этот прием был бы абсолютно безопасным, т. к. контаминация кишечной палочкой новорожденных совершенно неизбежна. С другой стороны, можно было бы проверить, предварительно, на животных, путем проведения контрольных опытов, в какой степени этот метод может предохранить от естественного заражения различными бактериозами, свойственными взятому в опыт виду животных.

Возвратимся к предмету нашего изложения. Если следить в течении длительного периода времени за определенным индивидуумом, выделяя и изучая вирулентность его кишечного бактериофага по отношению к различным микробам, легко убедиться в том, что вирулентность по отношению к кишечной палочке остается на одном и том же уровне, тогда как, время от времени (в особенности в периоды даже легчайших кишечных расстройств), появляются вторичные вирулентности, главным образом, по отношению к дизентерийным, паратифозным палочкам и, вообще, различным представителям группы сальмонелл. Изучение общего поведения бактериофага, за период уже проявившегося заболевания, порождает предположение, что каждая вторичная вирулентность, приобретенная кишечным бактериофагом, является показателем abortировавшей инфекции: благодаря пластичности и быстрой приспособляемости, бактериофаг вызывает быстрый лизис патогенного микроба, вторгшегося в организм.

Если приспособление не возникает с самого же начала, то бактерии получают возможность размножаться в организме и инфекция проявляется; мы видели в предшествующих главах примеры того, что если приспособление, в конечном счете, наступает, то за этим следует выздоровление; если же бактериофагия не проявляется, то больной погибает. Таково, по моим наблюдениям, течение этого процесса в обычной внеэпидемической среде.

2. БАКТЕРИОФАГ ПРИ ЭПИДЕМИЯХ БАЦИЛЛЯРНОЙ ДИЗЕНТЕРИИ ¹.

В течении эпидемии бациллярной дизентерии, вспыхнувшей в начале осени 1918 года в Парижском округе, мне довелось обследовать 29 случаев стертых кишечных расстройств: во всех этих случаях я констатировал наличие бактериофага, обладающего высокой вирулентностью по отношению к палочке Шига-Крузе, виновнице эпидемического заболевания. Я обследовал кишечное содержимое лиц, оставшихся здоровыми, но имевших прямой и близкий контакт с заболевшими: в их испражнениях также обнаруживался бактериофаг, обладавший повышенной вирулентностью по отношению к палочке Шига-Крузе.

В одном закрытом женском учебном заведении обнаружился ряд случаев дизентерии; при обследовании faeces пансионеров, избегших заболевания, мне удалось констатировать наличие, виру-

¹ Опыты и наблюдения, приводимые в этом параграфе, были изложены в цитированной работе.

лентного по отношению к палочке Шига, бактериофага. Отсюда следует, что не только выздоравливающие от этой инфекции, но и лица, приходившие с ними в контакт, носят в кишечнике бактериофага, вирулентного по отношению к микробу—виновнику заболевания.

Каково происхождение этого бактериофага? В этом направлении нами были произведены соответствующие изыскания.

3. БАКТЕРИОФАГ ПРИ ЭПИЗООТИЯХ ТИФА ПЕРНАТЫХ.

Тиф пернатых является заболеванием куриных (*Gallinaceae*), вызванным *salmonella gallinarum* (*sanguinarum*) Klein. Эта болезнь никогда не отмечалась во Франции ранее 1919 года, нам кажется, что эта эпизоотия тянулась с 1917 года, но, вначале, была смешиваема с куриной холерой. Быстрота ее распространения по всей территории Франции объясняется, по всей вероятности, непрерывными передвижениями войсковых частей по всей стране во время войны. Изучение этой болезни мною начато в 1919 году.

Привожу в качестве примера несколько наблюдений.

В ферме, расположенной около Rougy-sur-Aube, первая вспышка эпизоотии наблюдалась в 1917 году; вторая—весной 1918 года (стихла в сентябре). В апреле 1919 года новый взрыв эпизоотии: 24 мая 23 курицы (из 90-ти) погибли; одна из заболевших кур выздоравливает (первое выздоровление, отмеченное за весь год); из ее испражнений, собранных 28 мая, когда она начала снова питаться, мне удалось изолировать бактериофага, обладающего высокой вирулентностью по отношению к *salmonella gallinarum*. Начиная с этого времени, ни одна из оставшихся кур не заболела и эпизоотия оборвалась. Надо отметить, что 21 мая мною были обследованы экскременты 30 кур: 3 содержали бактериофага слабой вирулентности 23—давали лишь следы бактериофагии, 4 же—не содержали вовсе бактериофага. 30 мая мною произведено новое обследование 30 кур и у всех у них, без исключения, удалось обнаружить чрезвычайно вирулентного в отношении *salmonella gallinarum* бактериофага. На этот раз у меня были основания заподозрить источник возникновения этого бактериофага: первое выздоровевшее животное через свои испражнения обсеменило среду фагом, приспособленным к болезнетворному микробу и, таким образом, „заразило“ остальных кур, обусловив у них состояние повышенной устойчивости по отношению к заболеванию. Соответствующий микроб, попадая в кишечник, неизменно претерпевал лизис со стороны фага, обладавшего по отношению к нему повышенной вирулентностью.

В случае правильности моего рассуждения, должно было бы следовать, что фактор выздоровления представляет собой контагиозное начало: факт казался мне имеющим огромное значение и я занялся вплотную его проверкой. В течении той же эпизоотии тифа пернатых мне довелось неоднократно встречаться с аналогичными явлениями.

В соседнем селе Véricourt—первое животное гибнет 18 мая. 19-го я беру на выборку для исследования 12 проб испражнений, в трех из которых мне удалось обнаружить очень слабого бактериофага против *salmonella gallinagum*; 12 кур заболевают в промежутке между 19 и 26 числом; все гибнут. Одна курица заболевает 23-го; 25-го числа в ее испражнениях обнаружен очень вирулентный бактериофаг против *salmonella gallinagum*, курица выздоравливает; начиная с этого момента, эпизоотия резко и окончательно обрывается. 27-го числа я беру на выборку ряд проб испражнений, все они оказываются содержащими бактериофага, высоковирулентного в отношении патогенного микроба.

Позже, в другой ферме, я был свидетелем такого же резкого прекращения эпизоотии после спонтанного выздоровления трех кур, причем, по словам владельцев фермы, это были первые случаи выздоровления за весь год. С другой стороны, нам известно, что случайно проникшие в кишечник расы бактериофага не приживаются в нем и быстро выводятся наружу; я захотел убедиться, не приживаются ли они в среде, зараженной соответствующими, чувствительными к ним микроорганизмами и возможно ли осуществить экспериментальное „заражение“ бактериофагом? Привожу выводы моего опыта.

1. Курица, которой искусственно введена культура бактериофага, вирулентного по отношению к *s. gallinagum*, сохраняет его в своем кишечнике в течении приблизительно трех дней, но, если заставить ее заглатывать ежедневно по 2 куб. см. культуры *salmonella gallinagum*, то бактериофаг будет обнаруживаться в содержимом кишечника столь же долго, сколько длится питание курицы культурой сальмонеллы.

2. Если установить сожительство нормальных кур с курицей, у которой подобным образом поддерживается в кишечнике вирулентный бактериофаг, то 2—3 дня спустя—этот же самый бактериофаг обнаруживается в экскрементах нормальных кур, и у этих „зараженных“ фагом кур бактериофаг пребывает долгое время в кишечнике; для этого достаточно скармливать курам культуры чувствительного к данному фагу микроба.

3. Если прекратить кормление кур культурами чувствительных бактерий, то два или три дня спустя—не удастся обнаружить в их испражнениях фага, искусственно введенного в начале эксперимента; но, если, даже месяц спустя, начать кормить кур культурой чувствительной *salmonella*, то в экскрементах возможно бывает доказать наличие вирулентного бактериофага. Опыт этот служит доказательством того, что отдельные корпускулы могут оставаться в течение сравнительного длинного отрезка времени в организме, ничем не проявляясь. Их не удастся обнаружить прямым исследованием, но достаточно проникнуть чувствительным бактериям в кишечник, чтобы эти одиночные корпускулы размножились за их счет и снова начали выделяться в испражнениях в таких количествах, которые делают возможным их констатирование. Где они находились в течение того промежутка времени, когда их не удавалось обнаружить в испражнениях? При настоящем состоянии наших знаний, ответ может быть только предположительным: не в слизистой же кишечника следует их искать? Во всяком случае, эти опыты, устанавливая реальность перехода бактериофага от одного животного к другому, подтверждают гипотезу о контагиозности выздоровления.

4. БАКТЕРИОФАГИЯ ПРИ ЭПИЗООТИЯХ ГОМОРРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ.

В противоположность предшествующим заболеваниям, геморрагическая септицемия рогатого скота не гнездится в кишечнике, а является типичной бактериемией. Бактерии, вызывающие заболевание, принадлежат к группе пастерелл (*pasteurella bovis*). Бульонные культуры болезнетворного микроба сохраняют долгое время свою вирулентность: парэнтеральное введение буйволу или быку 1/50000 куб. см. бульонной культуры убивает животное в срок от 36 до 40 часов, при типичном для этого заболевания симптомокомплексе. В Индо-Китае и, впрочем, на всем Дальнем Востоке—время от времени возникают чрезвычайно губительные эпизоотии геморрагической септицемии рогатого скота. Я был свидетелем, в 1920 году, эпизоотии, начавшейся в июне месяце в области Бак-Лье: в месячный срок—из 30 тысяч буйволов, насчитывавшихся в этой области, погибло около 10 тысяч; мне не смогли показать ни одного животного, представившего хотя бы малейшие признаки заболевания, которое бы выздоровело. Длительность естественного заболевания редко превышает 24 часа; нередко случается, что животные гибнут молниеносно, посреди работы.

Спорадические случаи этого заболевания наблюдаются постоянно; исходя от них—ежегодно возникают маленькие эпизоотии, которые остаются локализованными в определенных деревнях. Время от времени эпизоотия распространяется на значительную площадь. От 5-го до 13-го мая 1923 года в деревне Лонг-Хю (Long Hui) 17 быков гибнут, а затем эпизоотия обрывается. Я исследую испражнения 4-х больных буйволов, но мне не удается обнаружить вирулентного по отношению к пастерелле бактериофага. 13-го мая я исследую испражнения десяти буйволов, устоявших от заболевания. Во всех случаях мне удается обнаружить вирулентного бактериофага. В испражнениях девяти буйволов, находящихся в соседних селениях, где эпизоотии не наблюдалось, ни в одном случае не обнаружено бактериофага, сколько нибудь вирулентного в отношении *pasteurella bovis* ¹.

Следовательно, нам удалось установить наличие вирулентного бактериофага в отношении болезнетворного микроба у буйволов, оказавшихся стойкими в отношении заболевания, и отсутствие фага у тех, которые находились вне эпизоотической зоны. Эпизоотия, о которой шла речь, захватила всю провинцию Бак-Лье и потясла в первых числах июля; она длилась месяц. Особенно же поражена была область Той Бинг (Thoi Binh); в ней были проведены следующие наблюдения: от 8-го до 13-го июля, т. е. в тот период, когда эпидемия шла на убыль (последний буйвол погиб 12-го), мною обследуются испражнения 20-ти буйволов, устоявших против эпизоотии и не представивших никаких симптомов заболевания. Во всех этих случаях мною выделен бактериофаг, вирулентный в отношении пастереллы; у семи из них он оказался обладающим максимумом вирулентности. В течении многочисленных моих поездок по Индо-Китаю, я обследовал faeces 41-го буйвола в деревнях, где за последние два года не наблюдалось ни одного случая гибели животных от геморрагической септицемии. Только у трех из них удалось обнаружить бактериофага, обладающего очень слабо выраженной литической способностью по отношению к пастерелле. Эти наблюдения позволяют вывести заключение, что, после эпизоотии, у всех буйволов, не поддавшихся инфекции, можно обнаружить бактериофага, высоковирулентного в отношении бактерий, виновниц заболевания.

Каково его происхождение? Мы убедились с давним пор в том, что в областях благополучных, в смысле эпизоотическом, не-

¹ Во всех этих случаях обнаружен бактериофаг против кишечной палочки, что является общим правилом,

которые из животных носят в своем кишечнике бактериофага, обладающего, помимо основной вирулентности по отношению к *B. coli* еще и слабо выраженной вторичной вирулентностью по отношению к пастерелле. Если эти буйволы приходят в контакт (в результате заглатывания) с *pasteurella bovis*, то эта вторичная вирулентность повышается благодаря тому же самому механизму, который наблюдается *in vitro*.

Отмечается ли распространение подобного бактериофага с повышенной по отношению к болезнетворному микробу вирулентностью—во внешней среде? Этот момент, несомненно, имеет место, т. к. мне удалось дважды изолировать бактериофага против геморрагической септицемии—из ила болот, где в теплые дневные часы лежали буйволы.

Переход бактериофага от животного к животному может осуществляться еще и другими путями: через загрязненную траву и в результате облизывания друг друга животными. С первого взгляда кажется непонятным, каким образом, бактериофаг, поведение и способ действия которого понятны при кишечных заболеваниях, может играть ту же роль и при инфекциях бактериемического характера? Но, в действительности, при геморрагической септицемии, болезнетворный микроб попадает в организм через пищеварительные пути и проникает в общий ток кровообращения через какой-нибудь участок кишечника (аналогично тому, что мы видим при сибирской язве): на вскрытии погибших животных эти ворота входа, обычно, легко бывает установить. Затем, следует отметить, что бактериофаг не остается локализованным в кишечнике, как это особенно ясно видно на примере бубонной чумы: при этом заболевании, вирулентный в отношении чумной палочки, бактериофаг обнаруживается не только в кишечнике, но и в соке бубона выздоравливающего. Механизм действия бактериофага при геморрагической септицемии буйволов представляется мне следующим образом: буйволы, носящие в своем кишечнике основного бактериофага, уже обладающего или способного приобрести в короткий срок вирулентность по отношению к патогенному микробу, противостоят инфекции, т. к. возникающие в их организме, болезнетворные зародыши бактериофагируются и болезнь abortирует бессимптомно. По выздоровлении, эти животные распространяют во внешней среде бактериофага с повышенным, по отношению к болезнетворному микробу, действием; буйволы, в организм которых попадают вирулентные по отношению к *pasteurella bovis* фаги (даже в том случае, если их основной бактериофаг не проявляет активности), с этого момента—защищены от инфекции в силу указанно-

го выше механизма и затем, в свою очередь, распространяют бактериофага со специфически повышенной вирулентностью—во внешней среде. Но у этих животных, носящих случайного, так сказать, „чужого“ бактериофага, этот фаг держится в кишечнике лишь в течении того срока, покуда имеют место реинфекции; эти реинфекции в эпизоотической среде наблюдаются часто. Когда же все буйволы в определенном эпизоотическом очаге оказываются носителями вирулентного по отношению к патогенной пастерелле бактериофага (основного или акцидентального),—мы находимся перед лицом прекращения инфекции.

5. БАКТЕРИОФАГ ПРИ ЭПИЗООТИЯХ ЧУМЫ СРЕДИ ГРЫЗУНОВ.

Общеизвестно, что эпидемия человеческой чумы есть лишь вторичный отголосок эпизоотии на грызунах. Следовательно, в целях борьбы с заболеваниями человека, необходимо глубже подойти к изучению первопричины, т. е. эпизоотии. Следует всегда иметь в виду естественный ход вещей: с точки зрения человека—основным моментом является эпидемия, с точки зрения естественного хода вещей, эпидемия является второстепенным инцидентом: если бы мы обладали возможностью оборвать эпизоотию, эпидемия не могла бы получить развития. Эпидемиология чумы нас учит тому, что крысы, в том населенном месте, где имела место человеческая эпидемия, могли устоять против инфекции, или выздороветь от нее, или оказавшись невосприимчивыми к заразе. Почему некоторые из этих крыс оказались невосприимчивыми к заразе, почему другие, заболев, выздоровели? Вопрос этот чрезвычайно сложен. Мы приводим лишь несколько примеров для подхода к его разрешению.

Человеческая чума эндемична в Бомбее свыше 40 лет. Чумный институт этого города, в результате экспериментов на десятках тысяч крыс, констатировал, что летом или осенью, практически, все пойманные крысы обладают стойким иммунитетом по отношению к чуме. В начале весны, наоборот, обнаружение чувствительных к инфекции крыс—частое явление. Пропорция чувствительных крыс по отношению к иммунной прослойке прогрессивно уменьшается от весны к осени. Причина этого понятна: в тропических странах самки мечут детенышей во время наименее жаркого сезона, в конце осени и зимой; детеныши не рождаются иммунными, а становятся таковыми в течении первых месяцев жизни, по всей вероятности, претерпев стертую форму заболевания и выздоровев от нее.

Да будет мне разрешено поделиться некоторыми практически ми соображениями: количество крыс в городе прямо пропорционально количеству пищи, предоставляемой в их распоряжение. В таком городе, как Бомбей, человек, уничтожая определенную пропорцию крыс, лишь способствует, благоприятствуя выживанию юных индивидов,—установлению равновесия между количеством крыс и количеством доступных для них пищевых запасов; но человек истребляет, главным образом, взрослых крыс, т. е. иммунную прослойку, и способствует выживанию молодых животных, т. е. наиболее чувствительных к чумной инфекции. Следовательно, крысоистребление, помимо того, что не достигает, полностью, намеченной цели—может быть и опасной процедурой. Но тогда, скажут мне,—не следует предпринимать никаких мер против крыс? Такое толкование моих слов будет, разумеется, неправильным. Мы лишь предлагаем другой путь для достижения этой цели. Крыса является животным, проводящим свою жизнь в темноте и могущим жить лишь в том случае, если в ее распоряжение предоставляются пищевые средства, богатые витаминами. Человек как бы нарочно предоставляет крысам подобную пищу: большинство отходов человеческой кухни представляет собой кожуру корнеплодов, фруктов и проч., чрезвычайно богатых витаминами. В обществе, лишенном надлежащей организации, истребление крыс в городах недостижимо; но в рационально организованном обществе—истребление крыс является сравнительно легкой задачей: достаточно все отбросы питания сохранять в герметически закрытых помещениях; крысы, вследствие общего недостатка пищи и, особенно, ввиду витаминного голодания—были бы осуждены на неизбежное оставление города.

Возвращаясь к предмету нашего изложения. Молодые крысы в Бомбее приобретают иммунитет по отношению к чуме в течении первых месяцев жизни, и это можно объяснить лишь перенесением ими, в слабой форме, заболевания.

Каков механизм выздоровления? Следующий факт намечает объяснение. Крысы, пойманные в Мадрасе, где чума не эндемична, не обладают никаким иммунитетом по отношению к заболеванию. Поэтому для всех опытов, производящихся в Бомбее, Чумным Институтом применяются крысы, специально выписанные для этой цели из Мадраса. Случается чрезвычайно редко, что на множество зараженных крыс—одна оказывается устойчивой в отношении экспериментального заражения. Авари (Avari) исследовал некоторых из этих крыс и обнаружил в их кишечнике очень вирулентного в отношении чумной палочки бактериофага. Следовательно, выздоравливают те крысы, основной бактериофаг которых обладает способ-

ностью быстрого приспособления к лизированию чумной палочки. Явление выздоровления от чумы у крысы, следовательно, вполне сравнимо с тем, что мы видим у человека; вторично возникает истинный иммунитет, уже как последствие выздоровления.

Вот другие наблюдения, которые подтверждают нашу точку зрения. В Бак-Лье (Индокитай) возникла маленькая эпидемия чумы, во время которой 11 местных жителей погибло. Эпидемия имела место в июле. В ноябре мною обследуются испражнения крыс, собранных в различных местах города. Во всех, без исключения, пробах я смог изолировать бактериофага, обладающего ясно выраженной вирулентностью по отношению к чумной палочке. Для сравнения, я обследовал тот же самый материал, но происходящий из деревень, где чума не имела места в течении долгих лет. Во всех этих случаях мне удалось изолировать бактериофага, обладающего активностью по отношению к кишечной палочке, но ни одного, способного лизировать палочку чумы.

Исследования испражнений крыс в местности, где имела место чума, представляют интерес и с другой точки зрения: длительное носительство противочумных бактериофагов указывает на наличие в обследуемой среде чумных палочек и, значит, на возможность новой эпидемической вспышки. Так, например, в Бак-Лье, где я нашел в испражнениях крыс вирулентного бактериофага спустя 4 месяца после последнего заболевания чумой людей—в следующую весну возникла новая эпидемия.

И в отношении чумы грызунов мы приходим к тому же заключению, что и для геморрагической септицемии: крысы, пережившие эпизоотию, носят в своем кишечнике бактериофага, вирулентного по отношению к микробу, виновнику заболевания.

6. БАКТЕРИОФАГ ПРИ ХОЛЕРНЫХ ЭПИДЕМИЯХ ¹.

Изложенные выше наблюдения помогли мне в изучении эпидемиологии азиатской холеры: изучение холеры начато мною в Индии в 1927 году с уже подготовленным планом изысканий.

¹ Работы по эпидемиологии холеры проведены при сотрудничестве главного медицинского инспектора, доктора Малона и доктора Лаирри. Все соответствующие опыты с подробными протоколами приведены в общем нашем труде под наименованием: „Этюды об азиатской холере“ (Indian Medical Research Memoirs, n°14).

1. Перманентное присутствие бактериофага, вирулентного по отношению к холерному вибриону, в кишечнике.

Доктор Стюарт (Stewart), профессор гигиены на факультете тропической медицины в Калькутте, обследовал в течении длительного срока определенное количество вибрионосителей с целью выяснения продолжительности бациллоносительства. Благодаря его любезности, я получил возможность систематически изучать бацилловыделителей с интересующей меня точки зрения. Среди этих бацилловыделителей четверо были под наблюдением в течении ряда лет; трое остались бациллоносителями после холерного приступа, имевшего место 14 месяцев до нашего исследования; трое других никогда не подвергались заболеванию, но, находясь в родстве с тремя предшествовавшими носителями, были, по всей вероятности, заражены контактным путем. Наконец, последний бацилловыделитель также никогда не болел холерой, но имел контакт с больными по характеру своей работы (служитель в холерном госпитале Кемпбелл) и был зарегистрирован, как бациллоноситель свыше двух лет)¹.

¹ Специальной комиссией, заседавшей в Париже по поводу обширной холерной эпидемии, свирепствовавшей в Европе с 1817 по 1823 г., декларируется, что холера „не является заразной болезнью“; комиссия опиралась, помимо других соображений, на то, что врачи и санитары, обслуживающие холерных больных в госпиталях, чрезвычайно редко заболевали холерой. По моей просьбе, были обследованы архивы госпиталя Кемпбэлл в Калькутте и в них за двадцать лет не обнаружено ни одного случая заболевания врачей или санитаров, обслуживающих холерные палаты. Этого нельзя объяснить высокой культурой обслуживающего персонала, т. к. санитаров в Калькутте чрезвычайно трудно приучить элементарным гигиеническим правилам, и они часто садятся за стол, только что вылив рисовидные испражнения холерных и не умыв даже после этого себе рук.

Второй факт, кажущийся на первый взгляд парадоксальным: в Калькутте три госпиталя принимают холерных больных: европейский госпиталь, превосходно содержащийся и где каждый больной имеет свою обособленную комнату; госпиталь факультета тропической медицины, также прекрасно содержащийся, но где больные находятся в общих палатах, и, наконец, госпиталь Кемпбэлл, предназначенный для неимущих, где царит чрезвычайная теснота. Указанное не означает, что в этом госпитале плохо поставлено дело лечения и наблюдения за больными. Но необходимо объективно констатировать, что палаты холерных больных перегружены и что кровати в 1927 году были отделены друг от друга на интервалл не более 50 сантиметров. При всем этом смертность в европейском госпитале колебалась вокруг 80%, в госпитале медицинской школы она равнялась 40%, а в госпитале Кемпбэлл была меньше 30%.

В свете имеющихся знаний о бактериофагии—этот факт не должен казаться необъяснимым; количество выздоровлений находится в прямой связи с большей или меньшей легкостью диссеминации бактериофага выздоравливающими.

У всех 4-х были обнаружены в испражнениях 2 расы бактериофага, одна—вирулентная по отношению к кишечной палочке и другая—к холерному вибриону. Вирулентность этой последней была слабой, но достаточно было единственного пассажа через ультрачистую культуру холерного вибриона *in vitro*, чтобы вирулентность фага резко поднялась. Все мои изыскания, произведенные в отношении вибрионосителей, подтверждают, что бациллоносители при холере выделяют вибриона-мутанта, в свою очередь, носителя бактериофага; следовательно, вибриононоситель сохраняет в своем кишечнике двух основных бактериофагов, из которых один приживается в кишечнике, благодаря наличию кишечной палочки, а другой—благодаря холерным вибрионам. Априорно, все то, что мы знаем относительно поведения бактериофага, учит нас, что вибриононосители должны пользоваться абсолютным иммунитетом в отношении холеры; многочисленные наблюдения различных авторов проведенные в различной обстановке, согласованно утверждают это положение.

Я приведу лишь один факт, имеющий ценность эксперимента. Во время эпидемии, возникшей в Румынии в 1913 году, все лица, не бывшие больными, но находившиеся в контакте с заболевшими и у которых было установлено бациллоносительство, помещены в изоляционный лагерь; таких оказалось свыше 10 тысяч. Бабеш (Babes), ведший обследование, констатировал, что среди них не возникло ни одного случая холеры. С другой стороны, среди тех лиц, которые находились в контакте с заболевшими, но у которых бактериологическое исследование не обнаружило холерного вибриона и которые по этой причине не были помещены в изоляционный лагерь,—отмечается значительное количество заболеваний.

Этот факт и множество ему подобных показывают, что вибриононосители не только не бывают источниками заразы; но что они и сами являются предохраненными от инфекции. Далее, индивидуумы, ставшие в результате контакта с ними носителями вибриона-мутанта, оказываются этим самым защищенными от возможности заражения ¹.

¹ Я указал в предыдущем параграфе, что чрезвычайно своеобразная эпидемиология холеры объясняется безвредностью вибриононосителей для окружающих. Что же касается носителей тифозной палочки, то тут положение совершенно иное, т. к. мутанты этого микроба являются вирулентными и, значит, бациллоносители представляют опасность для окружающих.

В отношении холеры—ни в одном случае не удалось установить, чтобы вибриононоситель являлся виновником возникновения холерной эпидемии, и объяснение всех вибриононосителей опасными для общества—является одним из примеров того стремления выносить суждение по аналогии, которое в медицине давало всегда плачевные результаты.

2. Изучение областей свободных от холеры.

В течении предшествовавших лет мною обследовано не менее 300 faeces в самых разнообразных странах (Франция, Голландия, Египет). Ни в одном случае я не мог открыть малейшей активности кишечного бактериофага по отношению к холерному вибриону. Мы произвели аналогичные исследования в 13 областях Индии, в которых за последние годы не было ни одного случая холеры; мы обследовали на наличие противохолерного бактериофага колодцы, водой которых население пользовалось для питья; наконец, нами были с этой целью обследованы мухи. Все эти исследования на наличие противохолерного бактериофага дали отрицательный результат. Отсюда можно вывести заключение, что в местностях, где холера не появлялась уже в течении многих лет, нельзя обнаружить вибрионолитического бактериофага, ни в кишечнике людей, ни во внешней среде.

3. Изыскания в поселениях, расположенных в эпидемической зоне, но оставшихся пощаженными эпидемией.

Все обследованные местности расположены в Пенджабе. Ни в одном из этих поселений холеры не было обнаружено, но все они находились в непосредственном соседстве с областями, где имела место, в недавнем прошлом, вспышка холеры. Из этих исследований явствует, что на территории, где существует холера, в поселениях, оставшихся пощаженными эпидемией, могут представиться два случая: в первом—обследование не дает возможности обнаружить бактериофага, сколько нибудь активного в отношении вибрионов; во втором—он обнаруживается и распространен повсеместно, вплоть до воды колодцев, в которой можно обнаружить вибрионов—мутантов, являющихся фагоносителями.

4. Обследование зараженных деревень.

Эти обследования показали нам, что в начале эпидемии можно обнаружить во внешней среде (вода колодцев, мухи) лишь типичных ультрачистых холерных вибрионов, агглютинирующихся в высоких титрах специфической сывороткой.

Когда же эпидемия достигла наивысшей точки подъема—то в воде некоторых колодцев и на лапках отдельных экземпляров мух можно обнаружить типичные холерные вибрионы, тогда как в других случаях—выделяются только вибрионы—мутанты, а в третьих—исследование позволяет обнаружить лишь расы бактериофага, об-

обладающие высокой вирулентностью в отношении типичных холерных вибрионов. К концу эпидемии нет никакой возможности обнаружить типичных холерных вибрионов, но повсюду с чрезвычайной легкостью обнаруживаются вибрионы-мутанты и бактериофаги, принадлежащие в двум типам: одни обладают высокой вирулентностью по отношению к холерным вибрионам и идентичны с теми, которые изолируются у выздоравливающих; другие обладают средней или слабой вирулентностью, но могут быть усилены в смысле вирулентности в результате единственного пассажа через культуру типичных вибрионов: они идентичны фагам, которые изолируются у носителей вибрионов-мутантов.

Первые быстро исчезают из среды и, за несколько дней до окончания эпидемии, можно обнаружить лишь бактериофагов, исходящих от носителей мутантов; эти же последние держатся в среде в течении ряда месяцев. Из всех этих наблюдений и опытов вытекает простая, ясная и достаточно обоснованная концепция механизма холерной эпидемии: ультрачистые вибрионы, типичные, патогенные, вносятся в общество чувствительных индивидов первыми заболевшими; начиная от первого больного и ближайших следующих за ним, патогенные вибрионы обсеменяют среду через посредство экскрементов, загрязняющих пищевые продукты, через питьевую воду и мух.

Первые случаи, обычно, смертельны. Наконец, один из заболевших выздоравливает (мы убедились из предыдущего параграфа, каков механизм этого выздоровления). Начиная от первого выздоравливающего и продолжая следующими, вирулентные по отношению к патогенным вибрионам бактериофаги обсеменяют среду с помощью тех же самых способов и теми же самыми путями, какими распространялись в начале эпидемии патогенные вибрионы. Когда, в результате такого обсеменения среды, все чувствительные индивиды носят в своем кишечнике соответствующего бактериофага—эпидемия прекращается. Наконец, через носителей вибрионов-мутантов—эти бактериофаги продолжают обсеменять внешнюю среду в течении долгого времени по окончании эпидемии.

Эпидемиологию холеры можно представить следующей схемой: каждый холерный больной представляет собой заразный очаг и переносит с собой патогенные микроорганизмы всюду, куда он передвигается; каждый носитель вибрионов-мутантов, т. е. каждый носитель бактериофага представляет собой очаг выздоровления и

предохранения и рассеивает факторы выздоровления всюду, куда он передвигается¹.

Учитывая эти факты, можно ставить эпидемиологические прогнозы: там, где в питьевой воде удастся обнаружить противохолерного бактериофага—обследователь может не опасаться развития холерной эпидемии.

7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Изо всего того, что нам известно о поведении бактериофага при эпидемиях (за исключением вопроса о мутантах, играющих различную роль в зависимости от микробного вида), процесс затухания эпидемии рисуется, в общих чертах, одинаково для всех изученных поныне бактериальных заболеваний. Его виновником является бактериофаг, обладающий свойством контагиозности. Что же касается бациллоносителей, то бактерии, носимые ими в кишечнике, всегда являются мутантами. Но мутанты некоторых видов (*Ebertheila Typhi*, напр.) могут сохранять без изменения первоначальную вирулентность, тогда как все мутанты иных видов (напр. *vibrio cholerae*)—авирулентны. Эпидемии, обусловленные ми-

¹ Я считаю нужным отметить, что отсюда не следует выводить заключения о ненужности санитарно-гигиенического надзора за людьми, пришедшими в контакт с заболевшими; все индивиды, приходившие в соприкосновение с больным, должны быть серьезно обследованы, но среди них следует подвергать изоляции, в первую очередь, тех, которые являются носителями агглютинирующихся в высоких титрах вибрионов (титр не ниже 1:250, 1:500), а затем и тех, которые не являются носителями: наблюдение должно длиться в течение семи дней, максимального инкубационного срока. Что же касается носителей неагглютинирующихся вибрионов или вибрионов, агглютинирующихся в невысоких титрах,—то их изоляцию я считаю излишней и даже вредной процедурой, т. к., будучи носителями вибрионо-мутантов (являющихся, в свою очередь, бактериофагоносителями) они не только сами устойчивы по отношению к холерной инфекции, но и представляют очаги защиты от холеры.

Мечников был сильно заинтересован поисками объяснения того факта, что город Версаль, находящийся в ближайшем соседстве с Парижем и питающийся питьевой водой из Сены (забор) воды имеет место вниз по течению, приблизительно, в 15 километрах от Парижа)—оставался всегда свободным от холерной эпидемии, даже в тех случаях, когда она в Париже приобретала характер пандемии. В Парижскую эпидемию 1892 года, Мечников отмечает частоту изолирования из питьевой воды в Версали атипичных вибрионов.

Теперь мы находим объяснение этой, по внешности парадоксальной, устойчивости населения Версали против холеры. Она обязана своим происхождением индивидам, носящим в своем кишечнике апатогенных вибрионо-мутантов.

жробами, мутанты которых могут быть вирулентными (брюшной тиф), являются, по сущности говоря, лишь обострениями перманентной пандемии, т. е. вирулентный возбудитель заболевания, извергаемый здоровым носителем, постоянно обсеменяет среду. Что же касается эпидемий, обязанных своим происхождением бактериям, мутанты которых теряют вирулентность (азиатская холера), то их ход совершенно иной: по окончании эпидемии, микроб-возбудитель исчезает совершенно из среды и для нового возникновения эпидемии необходимо реимпортирование ультрачистого микроба из области, где эта болезнь эндемична (Бенгалия, Индо-Китай, Юнан).

Заканчивая главу, в которой я изложил теорию выздоровления от инфекционных бактериальных заболеваний, как последствия вмешательства бактериофага,—я указывал на то, что эта теория принадлежит к числу тех, которые поддаются экспериментальной проверке. В этих целях—достаточно суметь воспроизвести по воле экспериментатора естественный процесс выздоровления. Если взгляды, сформулированные мною в результате изучения ряда эпидемических вспышек, отвечают действительности, то должна быть возможность, путем создания в начале же эпидемии тех естественных условий, которые приводят к ее затуханию,—оборвать эпидемическую волну.

Г Л А В А VII.

1. Произвольно вызванное угасание эпидемий.

Тиф пернатых.

Эти опыты осуществлены в 1919 году. Я начал применение бактериофага при тифе кур в 100 птичьих хозяйствах, расположенных в различных уголках Франции, согласно следующей методике: несколько десятков куб. см. культуры фага, вирулентного в отношении *salmonella gallinarum*, вводилось под кожу всем курам, находящимся в данном зараженном хозяйстве. Мне удалось добиться чрезвычайно быстрой ликвидации эпизоотии. Такая немедленная остановка не могла быть вызвана введением растворенной бактериальной субстанции, имеющейся в лизате, т. к. для возникновения иммунитета в этом случае требуется гораздо больший срок ¹.

Прекращение эпидемии, очевидно, следовало приписать вмешательству самого бактериофага. Впрочем, соответствующими опытами было доказано, что спустя 2 - 3 часа после введения бактериофага под кожу, его можно было обнаружить в кишечнике курицы. Раз дело шло о действии самого бактериофага, то можно было приступить к опытам прямого заглатывания препарата *per os*, оставляя в стороне парэнтеральный путь введения. И действительно, соответствующие опыты показали, что можно добиться прекращения эпидемии, давая бактериофага *per os*. Два года спустя, Крамер в Голландии добился тех же результатов, как путем впрыскивания бактериофага, так и путем дачи его *per os*. Крамер испробовал также *per os*-ное применение бактериофага при белом поносе цыплят, вызванном *salmonella pullorum*, с блестящими результатами.

Азиатская холера.

Учитывая опыт с тифом кур, я, начиная с 1921 года, мог рекомендовать прибегать в коллективной профилактике человека против холеры и брюшного тифа путем распространения бактериофагов с повышенной вирулентностью по отношению к микробам-возбудителям этих болезней. Но ни один экспериментатор не считал

¹ См. опыты вакцинации буйволов против геморрагической септицемии.

нужным проверить этот метод, несмотря на необычайную простоту его применения, и лишь в 1927 году мне удалось провести практическую проверку этого метода во время изучения факторов, регулирующих ход холерной эпидемии. Можно было использовать два пути: первый заключался в том, чтобы всем заболевшим давать *per os* бактериофага, вирулентного по отношению к холерному вибриону, предоставив в дальнейшем этим бактериофагам рассеяться в окружающей среде естественными путями; второй способ заключался в ускорении рассеивания бактериофагов, приливая чистые его культуры в источники водоснабжения, которыми пользовалось население. Оба метода были испробованы. В отношении первого метода нами прежде всего было установлено, на основании статистических отчетов, что в Пенджабе, в селениях, насчитывающих от 1 до 3 тысяч жителей, средняя длительность эпидемии равнялась от 26 до 27 дней. Кроме того, нам удалось установить, что средняя длительность эпидемии была всегда одна и та же, независимо от того, скрывалась ли вначале эпидемия от медицинских властей (и, следовательно, никаких мер против нее не было принимаемо), или (в случае распознавания) проводилась вакцинация населения и обезвреживание химическими методами источников водоснабжения. Надо заметить, что в Индии (в особенности в Пенджабе) чрезвычайно трудно быть свидетелем первых случаев заболеваний в деревнях, т. к. туземцы, убедившись на опыте в полной неэффективности принимаемых в этих случаях санитарными властями мер, скрывают случаи заболевания, причем в этом им помогают туземные власти. Несмотря на это, нам удалось в ряде деревень вмешаться во время в ход эпидемии. В каждом из перечисленных селений мы лечили бактериофагом больных (разумеется тех, кто дал на это согласие) лишь в течение 48 часового периода, а затем — мы предоставили эпидемию ее естественному ходу, без всякого вмешательства с нашей стороны. Приводим результаты дачи бактериофага *per os* больным.

Гавинди (Gawindi), 450 жителей, последние случаи холеры наблюдаются спустя 24 часа по окончании периода применения бактериофага (3 случая за эти 24 часа), общая длительность эпидемии — 10 дней.

Ляльпура (Lalpur), 1300 жителей. Последнее заболевание спустя 3 дня по окончании периода применения фага (8 случаев в течение этих трех дней), общая длительность эпидемии — 5 дней.

Яман Ят (Jaman-Jat), 600 жителей, последние случаи спустя 24 часа после начала применения фага (один случай за 24 часа); общая длительность эпидемии — 12 дней.

Яман-Сикх (Jaman Sikh), 2 тысячи жителей. Последние случаи наблюдаются в периоде применения фага; общая длительность эпидемии—5 дней.

Вайгал (Waigal), 1900 жителей. Последние случаи—спустя 5 дней после периода лечения (4 случая в течении этих 5 дней); общая длительность эпидемии—19 дней.

Ражиана (Rajiana), 3 тысячи жителей. Последние случаи в течении 24 часов по окончании периода лечения; 4 случая за эти 24 часа; общая длительность эпидемии—14 дней.

Асал Сулейман (Asal Suleiman), 2 тысячи жителей; последние случаи спустя 3 дня после начала лечения; общая длительность эпидемии—7 дней.

Дальхок (Dalhoke), 700 жителей; последние случаи в течении периода лечения; общая длительность эпидемии—5 дней.

Во всех этих деревнях мы были свидетелями быстрого снижения эпидемической кривой после начала лечения больных и угасания эпидемии в краткий срок.

Рассеивание бактериофагов через выздоравливающих затруднительно в Пенджабе, в силу особых, там наблюдающихся, условий: большинство деревень дает пристанище разнообразному населению, состоящему из следующих групп: мусульмане, сикхи, индусы, „swe-erers“ (парии). Каждая группа жителей живет обособлено, и, обычно, у каждой из них имеются свои колодцы. Таким образом, рассеивание бактериофагов среди всего населения—затруднено. Это положение вещей объясняет и своеобразие эпидемиологических наблюдений: в этих условиях затруднено и рассеивание самой инфекции самих холерных вибрионов; часто бывает, что заболевание возникает исключительно в одной группе населения, щадя все остальные.

Метод прямого „заражения“ источников водоснабжения взвешиваемыми активными против холерного вибриона бактериофагов, помогает обойти это затруднение.

Мы смогли применить его только в 3-х случаях.

Кот Андерсон (Kot Anderson), 800 жителей, питается 6-ю колодцами.

20—22 августа—16 случаев.

23/VIII — 3

24/VIII — 1

25/VIII — 4

25/VIII — 3

27/VIII — 2 „

24/VIII в один из колодцев, которым не пользуются для питьевой воды, добавляется перекись марганца в сильной концентрации,

во избежание того, чтобы колодцем пользовались. К воде других колодцев прибавляется по 50 куб. см. бактериофага, обладающего высокой вирулентностью по отношению к холерному вибриону. Мы узнаем на следующий день, что, тотчас же после нашего отъезда, жители совершенно опорожнили один из колодцев под тем предлогом, что туда упало кольцо (в действительности же, для того, чтобы не пользоваться водой, с их религиозной точки зрения, „нечистой“); дав колодцу снова наполниться водой, жители использовали ее для питья. Как только мы получили эти сведения, мы снова добавили в этот колодец дозу в 50 куб. см. культуры бактериофага. Спустя 48 часов эпидемия окончательно прекратилась. 27 и 30 августа в этой деревне были отпразднованы свадьбы, на которых присутствовали как обитатели этой деревни, так и многочисленные гости из окружающих деревень. Эти события сошли совершенно благополучно, несмотря на то, что в Индии, в холерное время, они, обычно, являются причиной взрывов эпидемии.

Ганг (Ghang), 1500 жителей, снабжается водой 4-х колодцев, два из них являются основными, остальные два—резервными. Как будет видно из дальнейшего, в действительности существовал еще пятый колодец, используемый для питья и расположенный во дворе одного из домов в 100 метрах от деревни и существование которого тщательно от нас скрывалось. Первый случай холеры отмечается 16/VIII: 14 заболеваний; 17/VIII: 11 заболеваний; 18/VIII: 4 заболеваний. Резервные колодцы подвергаются обработке перекисью марганца, а два основных колодца, снабжающих селение питьевой водой, получают по 40 куб. см. культуры бактериофага, каждый. 19 августа повторяется та же самая операция и наблюдается непосредственное снижение эпидемической кривой.

18/VIII—4 случая

19/VIII—1

20/VIII—1

21/VIII—0

22/VIII—0

23/VIII—0

24/VIII—3

25/VIII—1 „

Но из приведенной таблицы видно, что эпидемия, хотя в менее тяжелой форме, продолжала длиться. Тогда мы приступаем к подробному санитарному обследованию селения; во время одного из обходов один из нас замечает женщину, приходящую в деревню с кувшином воды. Допрошенная, она кончает признанием, что взяла эту воду из колодца, расположенного во дворе дома, стояв-

шего на опушке деревни. В этот колодец немедленно было налито 50 куб. см. бактериофага. Спустя 24 часа — не обнаружено ни одного нового случая заболевания.

Навар (Navar), 1800 жителей; питается водой 22-х колодцев.

2/VIII, через интервалы в несколько часов, возникают 6 случаев холеры; все больные принадлежат к племени ятов (Jats) и живут в домах, расположенных близко друг от друга. Трое из этих больных погибли в тот же день, остальные — на следующее утро. По совету сельского учителя, население уведомляет лабораторию. К моменту нашего приезда, утром 3/VIII, возникает два новых случая; случаи эти лечатся приемами бактериофага *per os* и кончаются выздоровлением. К следующему утру отмечается 4 новых случая, все среди ятов, живущих в той же части селения. 4/VIII, утром, мы прибавляем в ходе колодцев, которыми обслуживаются яты, 50 куб. см. бактериофага. Остальные колодцы обрабатываются концентрированным раствором перекиси марганца. Мы оставляем 4-х больных без всякого лечения, но они пьют колодезную воду, содержащую бактериофага; все четверо выздоравливают; ни одного нового случая не отмечено и эпидемия, которая представлялась вначале грозной, заканчивается за 48 часов. Мы увидим из дальнейшего, что это есть как раз средняя длительность эпидемии в тех случаях, когда бактериофаг применен своевременно, т. е. при возникновении первых случаев ¹.

В результате этих изысканий, правительство Индии основало специальную лабораторию для изготовления культур бактериофага, вирулентного для холерного вибриона, поручив заведывание ею доктору Ашешову. Лаборатория эта обслуживала, главным образом, провинцию Бихар (Bihar), где ежегодно имела место вспышка холеры. Официальными медицинскими органами установлено, что в провинции Бихар средняя длительность эпидемии в деревнях равняется 26-ти дням, когда применяется обычная вакцинация (гретой холерной вакциной), сочетаемая с обычными способами обезвреживания питьевой воды (химическими методами); длительность же эпидемии в тех случаях, где проводилось, в исключение всех ос-

¹ Методика индивидуального предохранения от холеры заключается в заглатывании натошак, через каждые 24 или 48 часов в течении всего времени пребывания в эпидемической зоне, утром, 2 куб. см. соответствующего фага, разбавленного в стакане воды.

Что же касается легочной чумы, то следовало бы ежедневно производить ингаляции соответствующего бактериофага, с таким расчетом, чтобы корпускулы фага попали в верхние дыхательные пути. В этом случае следует применять неразбавленный бактериофаг.

тальных способов борьбы с холерной эпидемией, лечение бактериофагом и обработка им же источников питьевой воды—выражалась в среднем в 48-ми часах. Подобные результаты не нуждаются в комментариях, в особенности, когда статистические данные касаются сотен селений. Что же касается стоимости противоэпидемических мероприятий, то по официальным отчетам управления здравоохранения, она выразилась для северного Бихара в 25 рупий в 1931 году, когда исключительно проводилась профилактика бактериофагом, тогда как стоимость кампании вакцинации и химического обезвреживания источников водоснабжения обошлась в 1930 году в 3118 рупий¹.

Противохолерный бактериофаг изготавливается также Ассамским Институтом медицинских исследований (Medical Research Institute of Assam), расположенным в Шилонге (Shillong) и заведываемом доктором Морисоном. В нем готовится ежегодно 2 миллиона доз противохолерного бактериофага.

Заканчиваю эту главу изложением опыта, проведенного Морисоном при сотрудничестве Мильфорда Райса (Milford Rice) и Шудюри (Sal Shoudury); опыта, который по широте размаха и четкости результатов—чрезвычайно убедителен.

Ассам является провинцией Индии, расположенной между Бенгалией и Бирманией; географически она разделяется на две большие низменности: долину Брамапутры (Brahmaputra) и долину Сурмы (Surma), отделенные одна от другой горной грядой (горы Ханси—Khansi), мало населенной и имеющей 200 километров в ширину.

С нашей точки зрения интересны только две долины, т. к. в горных областях случаи холеры являются чрезвычайной редкостью.

С точки зрения административной, каждая из двух долин разделена на 6 округов, поверхность которых колеблется от 2250 до 13.000 квадратных километров, а население от 450.000 до 975.000 жителей.

Общая поверхность всех 12-ти округов равняется 86512 квадр. километрам с населением в 7.959.763 жителя, распределенных по 28.333 селениям. Каждый округ разделяется на известное количество районов; район делится на более мелкие подразделения, которые называются тана (thanas); каждое thanas делится на mauas; в mauas насчитывается от 14 до 103 деревень, в зависимости от раз-

¹ В эти суммы не входит исчисленное расходов на изготовление культур бактериофага, ни стоимость противохолерной вакцины. Принимая во внимание одинаковую стоимость обоих препаратов, это несколько не отражается на общей сумме в которую обходится проведение самих мероприятий.

меров их; управляется она маузадаром. Каждая деревня управляется одним или несколькими старшинами (haedmen), которые имеют под своим началом от 120 до 150 домов. Я считаю нужным изложить все эти подробности для того, чтобы можно было бы судить надлежащим образом о ценности опыта, сделанного доктором Морисоном; с другой стороны, этот опыт может быть использован и в других странах, где, в определенных областях, могут наблюдаться аналогичные условия. В 1929 году правительство решило, по просьбе доктора Морисона, испытать в широком масштабе опыт профилактики холеры, в соответствии с принципами вынесенными мною из опытов, проведенных в Пенджабе в 1927 году.

Согласно выработанному плану, округ Наугонг (Nowgang) должен был явиться ареной эксперимента, тогда как округ Хабиганж (Habiganj) оставался в качестве контрольного.

Округ Наугонг расположен в долине Брампутры, занимает площадь 10134 кв. клм., насчитывает 2323 деревень и городов, населенных 562.581 жителем. Округ Хабиганж находится в долине Сурмы, имеет поверхность 2610 кв. клм., насчитывает 2530 деревень с населением 631.521 жителей. Эти два округа представляют одни и те же эпидемиологические условия. В округе Наугонг все деревни расположены на обоих берегах реки Каланг, длиной, приблизительно, в 150 клм. В округе Хабигани они все расположены на берегах реки Барак. Обе эти реки являются тем, что в Индии называют „dying rivers“, умирающими реками: в обычное время они представляют собой лишь ручьи, протекающие в центре очень широкого старого русла, но два раза в год: весной, когда тают снега на вершинах, и осенью—в разгар дождевого периода,—русла заполняются водой. К этому времени все отбросы, которые с момента последнего половодья накопились в высохшем русле вдоль линии расположения деревень, увлекаются водным потоком; в эти периоды—регулярно возникает эпидемия холеры. Те же эпидемиологические условия имеются и в других округах и можно было бы взять в качестве контрольного округа вместо Хабиганжа округа Даранг (Darrang), Камруп (Kamrup), Гоальпара (Goalpara) в долине Брампутры или округ Суманганж (Sumanganj) в долине Сурмы.

В условиях проводимого опыта немыслимо было осуществлять метод профилактики бактериофагом руками квалифицированных работников, т. к. на весь округ имелся лишь один врач. С другой стороны, диагноз первых случаев холеры не всегда является очень легким, т. к. руководясь лишь клиническими симптомами, возможно смешать эту инфекцию с тяжелыми дизентерийными приступами.

Обе эти трудности легко преодолеть, давая бактериофага *per os*; это является абсолютно безопасной, безвредной процедурой, даже в случае диагностической ошибки, т. к. бактериофаг не оказывает ни малейшего действия на клетки организма: если бактериофажное тельце приходит в контакт с чувствительными микробами, оно вызывает бактериофагию и размножается за счет бактерий; если же (как это имеет место при диагностических ошибках) оно не встречает чувствительных микробов—бактериофагии нет места и действие препарата на организм равносильно тому, какое могло бы произвести принятие во внутрь нескольких кубических сантиметров стерильного бульона. Следовательно, применение бактериофага можно поручить безбоязненно любому человеку, что в целом ряде случаев представляет огромное удобство. В том случае, который нас интересует, мы поручили деревенским старшинам (*haed-ten*) давать его пить всем тем лицам, которые проявляли какие либо признаки желудочно-кишечного заболевания.

Вторая трудность была преодолена Морисоном следующим образом: распределяемые населению ампулы содержали смесь различных бактериофагов, из которых одни были активны по отношению к холерному вибриону, а другие—по отношению к дизентерийным палочкам; следовательно, в случае заболевания холерой, как и в случаях бациллярной дизентерии—примененный бактериофаг должен был оказать лечебное действие¹.

Мы указали уже на то, как разделяются в административном отношении описанные нами округа. Вот каким образом производилось распределение ампул смешанного противохолерно-дизентерийного бактериофага в 2323 деревнях и поселках округа Наугонг. Все *mausas* были распределены на 3 группы; во главе каждой из этих групп находился врач. Каждая из 3-х групп была, в свою очередь, разделена на 3 подгруппы, во главе которой стоял „ассистент-распределитель“; главный врач округа имел общее наблюдение над всей этой организацией. Роль врачей, которым в этом помогали ассистенты-распределители, сводилась к тому, чтобы об'езжать деревни одну за другой и об'яснять хэдменам способ приме-

¹ Я пользуюсь смесями различных рас бактериофагов систематически, с 1928 года.

Так, например, под названием пиофага, мною изготовлена смесь различных рас фагов, активных по отношению к целому ряду гноеродных бактерий.

Под именем интестифага, мною создана смесь различных рас бактериофагов, обладающих литическим действием по отношению к группе дизентерийных, парадизентерийных тифозных, паратифозных палочек и т. д.

нения бактериофага, организовывать склады бактериофага и в случае нужды, возобновлять его запасы. Каждый хэдмен, который, как мы видели, управлял 150 домами, получает в свое распоряжение запас ампул бактериофагов из следующего расчета: одна коробка, содержащая 16 ампул, на каждые 125 жителей. Хэдмен мог, в случае нужды, испросить дополнительное количество фага из складских запасов, находящихся в распоряжении соответствующего маузадара.

Инструкция к применению фага заключалась в том, чтобы давать по ампуле каждые 3 часа, вплоть до выздоровления, каждому заболевшему. Каждый ассистент—распределитель был снабжен запасом печатных открыток, на которых он был обязан отмечать, во время посещения каждой деревни: состояние запасов бактериофага, количество использованных ампул, цель, с какою они были использованы, а также давать все остальные, могущие быть полезными, сведения. Эти почтовые карточки были адресованы Бактериологическому Институту в Шиллонге, где они классифицировались и сохранялись, как документы. Все расходы шли за счет местного бюджета, а в случае превышения ассигнований на эту цель по местному бюджету—мероприятия финансировались из общего бюджета провинции.

Дача ампул началась в мае 1929 года и охватила весь округ только к июню 1930 года. Начиная с этого момента, все обычные меры профилактики были отменены в округе Наугонг, т. е. были оставлены как противохолерные прививки гретыми вакцинами, так и обезвреживание воды химическими способами.

Вот конечный результат этого опыта: в контрольном округе Хабиганж, где все традиционные профилактические меры были проводимы в жизнь, эпидемии следовали одна за другой, как в прошлом: насчитывалось около 700 смертей от холеры в весеннюю эпидемию 1930 года и 500 в осеннюю эпидемию. В 1931 году 400 человек погибло от холеры весной и 200 осенью. Наконец, во время весенней эпидемии 1932 года насчитывалось 474 смерти от холеры; все остальные районы, перечисленные выше, давали приблизительно сходную эпидемиологическую картину.

Что же касается округа Наугонг, то в нем, в течении этих 30 месяцев не было ни одного случая эпидемии в селениях, но лишь несколько спорадических заболеваний, обусловленных контактными заражениями от больных из соседних округов. В 1930 году насчитывалось в этом округе лишь 64 смерти от холеры, в 1931 году 43 случая, в 1932 году 27 случаев. Подобное явление наблюдалось впервые за многие десятки лет. В 1932 году правительственным решением, опыт округа Наугонг был распространен и на округ Ха-

биганж, который до того времени служил в качестве контрольного. Округ Суманганж, соседний с Хабиганж, был оставлен в качестве контрольного. В силу уже приобретенного опыта, распределение бактериофага имело место чрезвычайно быстро, оно было закончено в июле во всех 2530 деревнях и поселках округа.

Вот результаты этого опыта: в Наугонге в течении 1932 года хэдмены применили бактериофага в 3906 случаях кишечных расстройств. Среди них наблюдалось 52 смертных случая, из которых 27 были обусловлены холерой, насколько можно судить по имеющимся описаниям. Однако, сообщение по шоссейным дорогам, железным дорогам и рекам всегда оживлено между округом Наугонг и соседними округами, которые были охвачены сильнейшей эпидемией в том же году. В округе Камрун, соседствующем с востока, было 2139 смертей от холеры за время одной лишь весенней эпидемии. В начале июля в округ Сибсагар (Sibsagar), который соседствует с округом Наугонг на западе, холера была занесена путешественником, прибывшим из Камрупа, следовательно проехавшим весь округ Наугонг. Эта эпидемия обошлась округу Сибсагар в 4029 смертей. В округе Дарранг (Darrang), расположенном на север от Наугонга, осенью возникла эпидемия, давшая 484 случая заболеваний с 317 смертными исходами. Эта последняя эпидемия свирепствовала с особой жестокостью в деревнях, расположенных на северном берегу Брампутры, как раз на виду у поселка Сильгат, находящегося на южном берегу; тут же имеется паром, очень оживленно посещаемый. Несмотря на все эти шансы заражения, которые, кстати говоря, повторяются ежегодно, никакой эпидемии в Наугонге отметить за эти годы нельзя. С 1930 года, несмотря на то, что холерные случаи чрезвычайно часто заносятся из соседних округов, возникают лишь спорадические случаи, немедленно же обрабатываемые бактериофагом; в результате—инфекция не распространяется, эпидемия, в настоящем смысле этого слова, не возникает. В 1933 году, когда чрезвычайно сильная эпидемическая волна возникает осенью во всем округе Ассам, смертность от холеры в Наугонге оказалась еще меньшей, чем в прошлом году. От холеры погиб лишь 21 человек.

В Хабиганж, как мы уже видели—во время весенней эпидемии 1932 года было 474 смертных случаев от холеры. В июле закончилась раздача бактериофага, к этому времени все остальные профилактические мероприятия отменены. От июля до декабря не наблюдается ни единой эпидемической вспышки. Также ни единого эпидемического взрыва и весной 1933 года, несмотря на свиреп-

ствующую в соседних округах холеру. С июля 1932 года насчитывается лишь 20 спорадических случаев холеры.

Холера, эндемичная в области Ассам, дает каждые 5 или 6 лет усиление эпидемической волны. Последняя такая волна наблюдалась в 1927 году. Весной 1927 года от холеры погибли 1501 человек в округе Хабиганж и 1443 человека в округе Суманганж. Осенью 1933 года возникает подобное же обострение эпидемической кривой. Смертность в округе Суманганж близко подходит к цифре 1927 года (1505 смертей), но в Хабиганже снова нет эпидемического взрыва и отмечается только несколько спорадических случаев (главным образом, занесенных из соседних округов и обусловивших 35 смертей).

Вот, наконец, опыт другого порядка. В разгар эпидемии, власти Ассамы дают распоряжение подвергнуть лечению бактериофагом больных одного района для того, чтобы убедиться в том, влияет ли вмешательство бактериофага на контагиозность больного? Район Хайлаканди (Hailakandi) в округе Кашар был избран с этой целью; округ Зильхар оставлен в качестве контрольного.

Первый случай был подвергнут лечению бактериофагом 17/X — 1933 года, когда эпидемия уже несколько дней свирепствовала (224 случая с 124-мя смертельными исходами). Я указал в предыдущем параграфе, каков был терапевтический эффект.

А вот что наблюдалось в отношении распространения инфекции: в районе Зильхара (Silchar) все население было вакцинировано гретой бактериальной вакциной (105.983 законченных вакцинаций на приблизительно 120.000 жителей); все источники водоснабжения в деревнях, где хотя бы один случай холеры имел место, были подвергнуты химической обработке; при всем этом наблюдалось в среднем одно новое заболевание холерой на каждые 4 дома; там же, где врач посещал больного и инструктировал окружающих, как избежать заболевания, возникал один новый случай на 10 домов. В районе Хайлаканди, начиная с 17/X все обычные способы профилактики были отменены (проделано всего 15.608 вакцинаций гретой вакциной на население в 67.000 жителей). Больные были лечены бактериофагом. Начиная с этого момента, во всем районе, в среднем, наблюдалось по одному случаю заболевания на 41 инфицированный дом, где наблюдались случаи первичных заражений. Даже в этих, чрезвычайно неблагоприятных, условиях — результат является совершенно ясным.

Последствия всех этих опытов подтверждают полностью, мне кажется, те выводы, которые я извлек из опытов, осуществленных в Пенджабе в 1927 году при сотрудничестве Малона и Лаури; а

именно, что профилактика с помощью бактериофага совершенно достаточна для того, чтобы повести к искоренению холерной эпидемии. У нас имеется возможность сейчас утверждать, что было бы достаточно распространить на всю Индию организацию, осуществленную Морисоном и его сотрудником в округе Наугонг и Хабиганж, чтобы вызвать прекращение холерной эпидемии во всей стране, и спасти, таким образом, ежегодно десятки и даже сотни тысяч жизней. К несчастью, инертность и рутинность часто оказываются сильнее любых экспериментальных доказательств.

Заметим что и при нынешнем состоянии наших знаний о фаге, — не только при холере сравнительно легко получить прекрасные результаты от применения бактериофага, но и при других инфекционных заболеваниях; так, например, можно было бы практически свести к нулю смертность от бациллярной дизентерии, губящей ежегодно столько человеческих жизней.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Я думаю, что после всех приведенных мною доказательств сомнению не должно быть места: бактериофаг—фактор, ведущий к естественному выздоровлению—может обусловить в экспериментальном порядке тот же самый процесс при искусственном введении больному (в самом начале инфекции) бактериофажных корпускулов, обладающих повышенной вирулентностью по отношению к возбудителю заболевания. Бактериофаг обладает свойством заразности и его рассеяние в среде является естественной причиной исчезновения эпидемии. Но для того, чтобы получить подобные результаты—я настаиваю на этом, имеющем решающее значение, пункте—недостаточно применить любой бактериофаг: только с помощью рас селекционированных бактериофагов, обладающих максимумом вирулентности и широким полем действия, можно добиться эффекта лечебного (выздоровления) или профилактического (исчезновения эпидемии). В этом единственная трудность рекомендуемого метода, но эта трудность легко может быть преодолена: вопрос разрешается технической организованностью лабораторной работы и наличностью соответствующих навыков и добросовестности у работников.

Читатель, проделавший совместный со мной путь, должен был убедиться в том, что изучение явления бактериофагии тесно связано с основными вопросами общей биологии, бактериологии, патологии, терапии, эпидемиологии и гигиены.

В сфере общей биологии—проблема заключается в пересмотре самой ее основы—клеточной теории жизни.

Согласно нашей концепции, не клетка является носительницей элементарных жизненных свойств; первоосновой жизненного процесса должна считаться гораздо меньшая частица вещества, мицелла.

Это позволяет нам дать об'яснение возникновению жизни, как результату физико-химического процесса, а не клеточной организации, что, в свою очередь, помогает с гораздо большей легкостью постигать материалистическое об'яснение зарождения жизни на земле.

В свете этих воззрений возникает надежда на то, что мы сумеем быть свидетелями перехода инертной материи в живое состояние в условиях эксперимента.

Изучение симбиозов между бактериями и бактериофагами ставит изучение проблемы мутации на новую почву, открывает перспективы раскрытия ее общих законов.

В бактериологии, взятой в тесном смысле этого слова—вскрытие закономерностей этих симбиозов позволит найти об'яснение происхождению микробных видов.

Факт существования паразита бактерий должен отразиться на наших основных иммунологических концепциях: инфекционное заболевание перестает быть драмой, разыгрывающейся между двумя актерами; на оценку вступает третий, узурпирующий доминирующую роль.

Одновременно, глубокие изменения претерпевает и терапия инфекционных заболеваний, т. к. доказана возможность экспериментального вызывания выздоровления.

Новый терапевтический метод получает все большее распространение; к настоящему времени, нет страны в мире, где бы он ни применялся; правда, в ряде случаев, это еще робкие и несовершенные попытки, т. к. нет ничего труднее, как победить укоренившееся в медицине предрассудки.

Бактериофаг, естественный фактор выздоровления, обладает способностью размножаться и рассеиваться в окружающей среде—следовательно, в наших руках идеальное средство противэпидемической борьбы, т. к. с его помощью мы получаем возможность направлять естественное явление к определенной цели: излечению больного и прекращению эпидемии.

Протекающие в природе процессы, ведущие к излечению от инфекционного заболевания или к прекращению эпидемической вспышки—могут быть заторможены и нейтрализованы процессами обратного порядка; для природы, не имеющей цели, безразлично, погибает ли единичное лицо от инфекционного заболевания или миллионы людей станут жертвой эпидемии; и в одном, и в другом случае, дело идет лишь о физико-химических закономерностях.

В горном водопаде, вода скатывается каскадами согласно всеобщему закону тяготения; в этом процессе нет никакой предустановленной цели.

Но человек, изучивший законы природы и сумевший подчинить их себе—использует слепую силу водопада в гидроцентрали: законы тяготения продолжают действовать попрежнему, но уже направленные волей человека к достижению человеческих целей.

Человеку дано действовать в том же направлении и в области лечения инфекционных заболеваний и борьбы с эпидемиями.

Самые мощные способы воздействовать на природу—заключаются в рациональном использовании человеком естественных, протекающих в природе, явлений: мы реализуем именно этот принцип, используя бактериофага в деле терапии и профилактики инфекционных заболеваний.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ.

41

Вопросу бактериофагии посвящено до нынешнего времени свыше 4000 работ: было бы затруднительно перечислить их в настоящем труде полностью. Я ограничился лишь теми из них, которые были мною использованы для данной книги.

1. **Alessandrini & Doria.** 11 batteriofago nella terapia del tifo abdominale. Il Policlinico, 1924, 20, 1447.
2. **Arnold & Weiss.** A study of Bacteriophage with antibacteriophage serum. J. infectious Diseases, 1924, 35, 505.
3. **Asheshov, I.** Pouvoir antigène des filtrats ultrastériles. Soc. Biologie, 1925, 93, 643.
4. " L'accoutumance du Bactériophage. C. R. Soc. Biologie, 1922, 87, 1343.
5. " Immunisation des Bactéries contre le Bactériophage. C. R. Soc. Biologie, 1925, 93, 644.
6. " Méthode améliorée pour l'obtention [de suspensions pures de Bactériophages. C. R. Soc. Biol. 1928, 98, 770.
7. " Divers Rapports annuels de „Bacteriophage Inquiry“ publiés dans Indian Journal of Medical Research années 1928 à 1933.
8. **Babès.** Académie Roumaine, Sèance du 15 Juin 1914.
9. **Bail, O.** Bakteriophagen Wirkungen gegen Flexner und Koli Bakterien. Wiener Klin. Wochenschr. 1921, 34, 448.
10. **Bayne Jones & Sandhóvzer.** Change in the shape and size of. B. coli and Megatherium under the influence of Bacteriophage. J. of Exp. Medicine, 1933, 57, 279.
11. **Bechhold.** Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. 1931, 112, 413.
12. " Kolloid. Zeitschr. 1930, 51; 134.
13. **Beckerich & Hauduroy.** Le Bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde. C. R. Soc. Biologie, 1922, 86, 168.
14. " Le traitement des affections urinaires a colibacilles par le Bactériophage de d'Herelle. Bull. Médical, Paris, 1923, 37, 273.
15. **Bernard, N.** Essai sur la tubérisation. Revue Générale de Botanique, 1932, T. XIV.

16. **Bernard, N.** L'évolution dans la symbiose. Ann. des Sciences Naturelles, (Bot), 1909, T. IX.
17. Remarques sur l'Immunité chez les Plantes. Bull. Institut Pasteur, 1909, t. VII.
18. **Bordet & Ciuca.** Autolyse microbienne et sérum antilytique. C. R. Soc. Biologie, 1921, 84, 280.
19. „ Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible, C. R. Soc. Biologie, 1920, 83, 1932.
20. „ Le Bactériophage de d'Herelle, sa production et son interprétation. C. R. Soc. Biologie, 1920, 83, 1926.
21. **Bronfonbrenner, J.** Newer knowledge of bacteriology and Immunology. University of Chicago Press. 1928, Chapter XL, p. 525.
22. **Bpuynoghe & Maisin.** Essais de thérapeutique au moyen du Bactériophage du Staphylocoque. C. R. Soc. Biologie, 1921, 85, 1120.
23. **Buchner.** Über die bakterientötende Wirkung des zellfreien Blutserums. Centralbl. f. Bakt. 1889, 5, 817.
24. **Burnet, F.** Lysogenicity as a normal function of certain Salmonella strains. Jour. Path. and Bacteriology, 1932, 35, 851.
25. Recent work on the biological nature of bacteriophages. Trans. Royal Soc. of trop. Med. and Hyg. 1933, 26, 409.
26. Immunological Studies with Phage coated Bacteria; Brit. Jour. of exp. Path. 1933, 14, 93.
27. A specific soluble substance from bacteriophages. Brit. Jour. of exp. Path. 1933, 14, 100.
28. Specific agglutination of bacteriophage particles. Brit. Jour. of exp. Path. 1933, 14, 302.
29. **Callerio & Schiantarelli.** Ricerche sul batteriofago nel tifo. Societa Medico-cirurgica di Pavia. 1930, № 5.
30. **Choudoury & Morison.** Bactériophage treatment of dysentery. Indian Med. Gazette. 1929, 64, № 2.
31. **Claeys & Peyre.** Deux cas d'ostéomyélite traités par le Bactériophage. Bull. Soc. Med. de Paris, 1926. 11 juin.
32. **Coons & Kotila.** Bacteriophage in relation to plants pathogenes. Phytopathology, 1925, 15, 357.
33. **Costa Cruz,** da Sobre a lyse microbiana transmissivel. Mem. Instituto Oswaldo Cruz (Brazil). 1922, 16, 104.
34. Le traitement des dysenteries bacillaires par le Bactériophage. C. R. Soc. Biologie, 1924, 91, 845.
35. O bacteriofago em therapeutica, Brazil Medico (Rio de Janeiro), 1923, 37, 298.

36. **Courcoux, Philibert & Corday.** Un cas de pyélonéphrite gravidique traité par le Bactériophage de d'Herelle. Bull. et Mem. des Hôpitaux de Paris. 1922, 46, 1151.
37. **Couvy, L.** Traitement de la peste par le Bactériophage. Bull. Soc. Path. exotique, Nov. 1930.
38. Le Bactériophage du Bacille de Yersin, son comportement in vivo. C. R. Soc. Biologie, 1932, 110, 33.
39. Le Bactériophage du Bacille pesteux, son utilisation thérapeutique. C. R. Congrès International d'Hygiène méditerranéenne. 1932, p. 522.
40. **Couvy, Lambert & Dufour.** Le Bactériophage du Bacille de Yersin. Ann. Institut Pasteur. 1932, 48, 541.
41. **Davioud.** Septicémie Staphylococcique traitée par le Bactériophage. Bull. et Mem. Soc. Nat. de Chirurgie. 2 Novembre 1928.
42. **Davison.** Therapeutic application of bacteriolysants, d'Herelle's phenomenon. Americ. Jour. Diseases of Children. 1922, 23, 531.
43. **Doerr & Berger.** Die antagonistische Wirkung von Gelatin und Agar auf den Ablauf der Bakteriophagen Reaktion. Zeitschr. f. Hyg. u. infekt. 1922, 97, 422.
44. **Doren de Jong.** The Bacteriophage of *B. megatherium*. Proceedings Academy of Science of Amsterdam. 1930, 33, 51.
45. **Emmerich & Low.** Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank. 1899, 31, 1.
46. **Eliava, G.** voir d'Herelle & Eliava ainsi que in „Le Bactériophage, son rôle dans l'Immunité“.
47. **Eijkman, C.** Über thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen. Centralbl. f. Bakt. I. Or., 1904, 37, 436.
48. **Flu, P. C.** Das Verhalten eines inagglutinable Flexner-Bakterium gegenüber Anti-Flexner Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. I. Or., 1923, 90, 362.
49. **Gratia & Jaumain.** Réaction de fixation de l'alexine et spécificité antigénique des principes lytiques. C. R. Soc. Biologie. 1922, 87, 99.
50. **Gildemeister, E.** Weitere Mitteilungen über Variabilitätserscheinungen bei Bakterien, die bereits bei ihrer Isolierung aus dem Organismus zu beobachten sind. Centralbl. f. Bakt. I. Or., 1916, 79, 49.

51. **Gough & Burnet.** The chemical nature of Phage inactivating agent in bacterial extracts. Jour. of Path. and Bact. 1934, 38, 301.
52. **Hadley, P.** Bacterial Dissociation. J. Inf. Diseases. 1928, 42, 263.
53. **Hauduroy, P.** Le rôle du Bactériophage dans la fièvre typhoïde. C. R. Soc. Biologie, 1923, 89, 875.
54. „ Etude sur une épidémie de fièvre typhoïde, le rôle du Bacteriophage de d'Herelle. J. de Physiol. et Path. générale. 1924, 22, 904.
55. Les cultures secondaires après filtration dans le phénomène de d'Herelle. C. R. Soc. Biologie, 1924, 91, 1209 & 1325.
56. Le Bacteriophage de d'Herelle. 1 vol. Paris, 1925, 212 pp. Le François edit. (traduit en russe).
57. **Halphen.** Traitement abortif des phlegmons des amygdales. Soc. des Laringologistes des Hôpitaux de Paris. Séance du 15 Avril 1929.
58. **Halphen & Djiropoulos.** Traitement de l'ozène. Presse Médicale, 1933, N° 10, 4 Février.
59. **Hankin, E.** L'action bactéricide des eaux de la Jumna et du Gange. Ann. Institut Pasteur. 1896, 10, 511.
60. **Hedershee & Wolff.** Geneeskrachtige waarde van den Typhusbacteriophag. Nederl. Tijdschr. v. geneesk. 1924, 68, 2706.
61. **Herelle F,** d'Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les Sauterelles. C. R. Ac. Sciences. 1911, 152, 1413.
62. Le Coccobacille des Sauterelles. Ann. Institut Pasteur. 1914. 28, 280.
63. „ Sur un microbe invisible, antagoniste des bacilles dysentériques. C. R. Acad. Sciences 1917, 165, 373.
64. Sur le rôle du microbe filtrant bactériophage dans la dysenterie bacillaire. C. R. Ac. d. Sciences, 1918, 167, 970.
65. Du rôle du microbe filtrant bacteriophage dans la fièvre typhoïde C. R. Ac. des Sciences, 1919, 168, 631.
66. Sur le rôle du microbe bacteriophage dans la typhose aviaire. C. R. Ac. des Sciences, 1919, 169, 932.
67. Le processus de défense contre les bacilles intestinaux et l'étiologie des maladies intestinales. C. R. Ac. d. Sciences, 1920, 170, 72.
68. Sur la résistance des bacteries à l'action du Bacteriophage. C. R. Soc. Biologie, 1920, 83, 97.
69. Le Bacteriophage, son rôle dans l'immunité. 1 vol. 277 pages in „Les Monographies de l'Institut Pasteur“, Paris

- 1921, Masson & Cie Edit. (traduit en anglais, allemand, hollandais, russe).
70. **Hérelle, F.** d' Le microbe bactériophage, agent d'immunité dans la peste et le barbone. C. R. Ac. des Sciences, 1921, 172, 99.
71. „ Phénomènes coïncidant avec l'acquisition de la résistance des bactéries à l'action du bacteriophage. C. R. Soc. Biologie, 1921, 84, 384.
72. Rôle du Bacteriophage dans l'Immunité. S. R. Soc Biologie, 1921, 84, 538.
73. Le Bacteriophage, son rôle dans l'Immunité. Presse Médicale, 1921, 29, 463.
74. „ Le Bactériophage. La Nature. 1 Octobre 1921.
75. Sur les anti-lysines d'origine bactérienne. C. R. Soc. Biologie. 1922, 86, 360.
76. Les défenses de l'organisme. 1 vol. 229 pp. Paris 1923, E. Flammarion édit.
77. Le Bactériophage. Revue de Pathologie comparée. 1923, 23, 41.
78. Immunity in natural infectious diseases. 1 vol. 399 pages. Baltimore 1924. Williams & Wilkins publishers.
79. „ Les Ultra-Virus. Nederl. Maandschr. v. Geneesk Leiden. 1925, 13, 69.
80. Le Bacteriophage et son comportement. 1 vol. 560 pages. Paris 1926; Masson & Cie Edit. (traduit en Anglais, published by Williams & Wilkins, Baltimore).
81. „ Le traitement de la Peste bubonique. Presse Médicale. 1925, p. 1393.
82. The Bacteriophage and its clinical applications. 1 vol. 254 p. Springfield, Mass. U. S. 1930. Thomas, publisher.
83. The Carrier Problem. Yale Journal of Biology and Medicine. October 1930, p. 21.
84. „ Bactériophage as a treatment in acute medical and surgical infections. Bull. New York Academy of Medicine. Mai 1931. T. VII, p. 329.
85. d Bacterial Mutations. Yale Jour. of Biology and Medicine. 1931, 4, 55.
86. „ Prophylaxie collective du Cholera par le Bacteriophage. Congrès internat. d'Hygiène méditerranéenne. Marseille 1932, vol. 1, p. 485.
87. Le Bacteriophage et ses applications thérapeutiques. La Pratique Médicale Illustrée. Paris 1933. Doin & Cie Edit.

88. Herelle, F. Le Bactériophage dans ses relations avec l'Immunité. Convegno Volta, Rome 1933.
89. Herelle-d' & Eliava Sur la lysine du Bacteriophage. C. R. Soc. Biologie. 1921, 85, 701.
90. „ Sur le sérum anti-bacteriophage. C. R. Soc. Biologie, 1921, 84, 719.
91. Herelle, F. d' Malone & Lahiri. Etudes sur le choléra. 1 vol. 192 pages, publié par le Conseil Sanitaire, Maritime et Quarantenaire d'Egypte. 1929.
92. Studies on asiatic cholera. Indian Medical Research Memoirs, No 14, 161 pages. Calcutta 1930. Tacker, Spink & Co, publishers.
93. Herelle F. d' & R. Beecroft. Bacterial Mutations. Jour. Lab. and clinical Medicine. 1932, 17, 667.
94. Herelle, F. d' & T. Rakiétien. Mutations as governing bacterial characters and serological reactions. Journal of Infectious Diseases, 1934, 54, 313.
95. Herelle, F. d' & M. Pakietien. The susceptibility of hemolytic Staphylococci to Bacteriophage. J. of Americ. Medical Association. 1933, 100, 1014.
96. Herelle F. d' & M. Rakiétien. Adaptation of a Staphyphage to anti-bacteriophagic serum. (sous presse).
97. Herelle F. d' & Malone. Treatment of cholera with bacteriophage. Indian Medical Gazette. Calcutta, 11 November 1927.
98. Johnson, J. Transmission of viruses from apparently healthy potatoes. Wisconsin Agricultural Station, Bull. No 63, 1925.
99. Kabelik & Kukula. La chimiotaxie du Bacteriophage. C. R. Soc. Biologie, 1925, 92, 1058.
100. Kramer, J. Bijdrage tot de kennis van de rol van den bacteriophage (d'Herelle) bij infectie en immuniteit. Thèse, Utrecht, 120 pp. 1925. Schotanus & Jens Edit.
101. Kruse & Pansini. Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniæ und verwandte Streptokokken. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt., 1892, 11, 279.
102. Le Louet. Immunisation contre le barbone au moyen du Bacteriophage. Archives des Instituts Pasteur d'Indochine, 1925, No 1, p. 91.
103. Immunisation contre le barbone du Buffle. Congress of the Far Eastern Medical Association, Singapore 1923.

104. **Morison, J.** Bacteriophage in the treatment and prevention of cholera. 1 vol. 32 pp. London 1932. H. K. Lewis & Co. Publishers.
105. **Morison, Choudhury & Rahman.** Cholera and its treatment with Bacteriophage. Indian Medical Gazette, Calcutta, 1930, 65, 121.
106. **Morison, J.** Bacteriophage in the treatment and prevention of cholera. Indian Journal of Med. Research. 1934, 21, 791.
107. Annual Reports of the King Edwards Memorial Institute of Assam (Official Publication), 1929 to 1934.
108. **Martin, C.** de Treatment of Sprue. Trans. Far East Association of Tropical Medicine. 1927, p. 84.
109. **Metchnikoff, E.** L'Immunité dans les Maladies infectieuses. Paris, 1901. Masson & Cie Editeurs.
110. **Munter & Boenheim.** Über therapeutische Versuche mit bakterienphagen Lysine bei Kindern und Säuglingen. Zeitschr. f. Kinderkrank., 1925, 39, 388.
111. **Nanavutty, S.** The thermal death rate of the Bacteriophage. J. of Path. and Bacteriology. 1930, 33, 203.
112. **Nelson, A.** Journ. of Immunology. 1924, 11, 43.
113. **Nuttal, G.** Experimente über bakterienfeindliche Einflüsse des tierischen Körper. Zeitschr. f. Hyg u. Infekt. 1888, 4, 353.
114. **Otto & Munter.** Zum d'Herelleschen Phänomen. Deutsche Med. Wochenschr. 1921, 47, 1579.
115. **Peyre, E.** Le Bacteriophage. Le Progrès Médical. 1923, 38, 53.
116. **Pereira.** O phenomeno de d'Herelle. Thèse Porto Allegre (Brazil) 1924.
117. **Philibert, A.** Le principe bacteriophage de d'Herelle. Médecine. Paris, 1924, 5, 191.
118. **Prausnitz C.** Untersuchungen über den d'Herelleschen Bakteriographen. Centralbl. f. Bakt. 1, Or. 1922, 89, 187.
119. **Prausnitz C. & Firlé.** Neuere Untersuchungen über das Wesen des Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. 1. Or., 1924, 93, 148.
120. **Price, W. C.** Acquired immunity to ring-spot in Nicotiana. Contribution from Boyce-Thompson Institute (U. S.) 1932, 4, 359.
121. **Raiga, A.** Journal des Praticiens, № 48, 1 Decembre.
122. „ 1928. Presse Medicale, № 12, 9 Fevrier 1929,
123. „ Traitement des affections staphylococciques par le Bacteriophage de d'Herelle. Revue Médicale Universelle. 1930, № 4, 5.

124. **Raiga, A.** Le Bactériophage et ses applications thérapeutiques. La Science Médicale Pratique, 1931, 6, 690.
125. Deux cas de parotidite aiguë post-opératoire traitées par le Bacteriophage. Bull. Soc. des Chirurgiens de Paris, 19 Mai 1933.
126. „ Guérison d'une ostéomyélite prolongée par une injection intra-veineuse de Bacteriophage. Bull. Soc. des Chirurgiens de Paris, 7 Juillet 1933.
127. Guérison d'une arthrite purulente du genou à Streptocoque par une inoculation intraarticulaire de Bacteriophage. Bull. Soc. des Chirurgiens de Paris, 6 Juillet 1934.
128. Le rôle du terrain dans les complications infectieuses des cancers du col utérin. Antiphages et Bacteriophages. C. R. Congres de Madrid, 1933.
129. Le rôle du terrain organique dans l'évolution et le traitement de la furonculose. Anti-phages et Glycémie. Bull. Soc. des Chirurgiens de Paris, 19 Octobre 1934.
130. Le Staphylocoque et le Bactériophage. Archives hospitalières, Paris. Octobre 1934.
131. **Rakietien, M.** The preservation of a polyvalent Staphylococcus Bacteriophage. Science, 1932, 76, 85.
132. **Rakietien (M) & Hunt.** The adsorption of Bacteriophage with Kaolin and infusorial earth. J. of Hygiene, 1932, 16, 823.
133. **Schless R.** Staphylococcus aureus Meningitis, treatment with specific Bacteriophage. American J. of Diseases of Children. 1932, 44, 813.
134. **Schurman, C.** Der Bakteriophage, ein lebender Organismus. Centralbl. f. Bakt. I. Or., 1925, 95, 97.
135. **Schultz, E. W.** Bacteriophage as a therapeutic agent. California & Western Medicine, 1932, vol. 36.
136. **Schlessinger, M.** Die Bestimmung von Teilchengröße des Bakteriophagen durch Zentrifugerversuche. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1932, 114, 161.
137. **Seiffert W.** Das d'Herellesche Phänomen als „exogene Autolyse der Bakterien“. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1922, 98, 432.
138. **Sertic, V.** Untersuchungen über einen Lysinzone bildenden Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. I. Or., 1929, 110, 125.
139. Origine de la lyse d'une race de Bacteriophages. C. R. Soc. Biologie, 1929, 100, 477.
140. „ Contribution à l'étude des phénomènes de variations du Bacteriophage. C. R. Soc. Biologie, 1929, 100, 614.

141. **Sertic, V.** Procédé d'obtention de variantes du Bactériophage appelées à lyser les formes bactériennes secondaires. C. R. Soc. Biologie. 1929, 100, 612.
 142. **Application** de la methode de purification des cultures mixtes de d'Herelle à la recherche de nouvelles races de Streptophages. C. R. Soc. Biol. 1930, 105, 534.
 143. **Sertic & Boulgakow.** Lysines du Bacteriophage présentant différentes thermo-résistances. C. R. Soc. Biologie, 1931, 108, 948.
 144. **Sur des Bacteriophages hypervirulents spécifiques pour B. typhosus** C. R. Soc, Biologie, 1932, 111, 605.
 145. **Smith, Geo.** Jour. of Immunology. 1928, 15, 125.
 146. **Todd, C.** Electrical behaviour of Bacteriophage. Brit. Jour. of exp. Pathology, 1927, 8, 369.
 147. **Tomaselli, C.** Contributo allo studio del batteriofago. Milano, 1923, 1-vol. 53 pp. A. Cordiani edit.
 148. **Twort, F.** An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet, 1915, vol. 2, p. 124.
 149. **Weiss, E.** Purification of bacteriophage. Journal of Immunology, 1927, 13, 311.
 150. **Meiss & Arnold.** J. of infectious Diseases. 1924, 34, 315.
 151. **Zaytseff-Jern.** Experiments on experimental peritonitis. Proc. Soc. exp. Biology and Medicine. 1932, 29, 741.
-

О Г Л А В Л Е Н И Е:

	Стр.
Предисловие	2
Бактериофаг в его взаимоотношениях с явлением выздоровления при инфекцион- ных заболеваниях	

Г Л А В А I.

Я в л е н и е б а к т е р и о ф а г и и

1. Часть историческая .	11
2. Бактериофагия	14
3. Явление бактериофагии передается из пробирки в пробирку непрерывными рядами	16
4. Условия возникновения бактериофагии .	17
5. Техника изолирования бактериофага .	19
6. Физическая природа бактериофага	21
7. Выделение чистых культур фага .	24
8. Подсчет корпускулов бактериофага .	26
9. Процесс разрушения бактериального тела .	28
10. Размножение корпускулов фага .	33
11. Вариабильность бактериофага	34
12. Оценка вирулентности бактериофага	35
13. Повышение и понижение вирулентности бактериофага .	37
14. Объем действия бактериофага	39
15. Чувствительность бактериальных видов к бактериофагу .	42
16. Вторичные культуры	43
17. Протобактерии	45

Г Л А В А II.

Б а к т е р и о ф а г.

1. Свойства бактериофагового корпускула.	
Размеры	48
Получение чистых суспензий	49
Устойчивость по отношению к температуре	50
Действие антисептических веществ	53
Жизнеспособность	54
Действие ультрафиолетовых лучей	56
Химическая природа	57
2. Бактериофаговый корпускул: коллоидная мицелла.	
Коллоидное состояние вещества	57
Коллоидное равновесие	63
Вирусы, рассматриваемые как коллоидные мицеллы	64
Коллоидное равновесие бактериофага	65
3. Приспособляемость бактериофагового корпускула	69
Приспособление к химическим воздействиям	70
Приспособление к физическим воздействиям	71
Приспособляемость к антибактериофажной сыворотке	72
4. Автономное существование бактериофагового корпускула	79
5. Проблема природы бактериофага	81

II

6. Идентификация бактериофага .	84
7. Критерий жизни	86
8. Метаболизм бактериофажного корпускула	87
9. Явления, вытекающие из факта сецернирования лизина	92
10. Единство бактериофага	83
11. Общие выводы относительно живой природы бактериофага	95

Г л а в а III.

Симбиоз бактерия-бактериофаг.

1. Симбиоз, как фактор мутации	98
2. Симбиоз бактерия-бактериофаг	. 103
3. Методика искусствен. получения вариантов (мутантов)	. 105
4. Происхождение изученных вариантов	. 107
5. Последующие видоизменения вариантов	. 108
6. Мутанты, как носители бактериофага .	. 109
7. Чувствительность мутантов к бактериофагу	. 113
8. Изменение ферментативных свойств .	. 116
9. Вариации в вирулентности	. 116
10. Носители мутантов .	. 120
11. Агглютинационная и агглютиногенная способность мутантов	. 121
12. Бактерицидность алексина по отношению к мутантам	. 124
Опыт с мутантом I	. 129
Опыт с мутантом II .	. 131
13. Множественные симбиозы	. 134
14. Следствия бактериальных мутаций	. 135
15. Бактерии—фагоносители	. 138
16. Типы бактериофагов.	
17. О явлении мутаций .	—.

Г Л А В А IV.

Бактериофаг и его роль в иммунитете.

Часть I.

1. Введение	. 140
2. Бактериофагия	. 141
3. Бактериальные мутации и вирулентность	. 141
4. Влияние бактериофага на агглютинабельность бактерий	. 142
5. Влияние бактериофага на чувствительность бактерий к бактерицидному действию алексина .	. 143
6. Опсоническое действие литических ферментов, вырабатываемых фагом .	. 144
7. Антибактериофагные сыворотки	. 146
8. Иммунизаторная способность бактериальной субстанции, растворенной под влиянием бактериофага	. 147

Часть II.

Бактериофаг, как фактор выздоровления.

9. Явление выздоровления .	. 151
10. Происхождение бактериофага, причины выздоровления	. 155
11. Пути доказательства правильности теории иммунитета	. 156

Экспериментально вызванное выздоровление.

1. Бациллярная дизентерия	. 159
2. Шпру .	. 162
3. Детская диаррея	. 162
4. Заболевания мочевых путей	. 163
5. Холециститы	. 169
6. Заболевания, вызванные стафилококком	. 170
1. Фурункулы и карбункулы .	. 174
2. Панарации .	. 178
3. Абсцессы и флегмоны .	. 179
4. Инфицированные раны .	. 182
5. Стафилококковые септицемии	. 184
6. Стафилококковый менингит	. 187
7. Остеомиелит .	. 188
8. Перитониты	. 190
9. Стрептококковые инфекции	. 191
10. Озена	. 192
11. Брюшной тиф и паратиф	. 192
12. Чума человека	. 195
13. Азиатская холера	. 203
14. Инфекционные заболевания животных	. 211
15. Антитоксическое действие	. 212
16. Техника изготовления фага для лечебного применения	. 213

Г Л А В А VI.

Контагиозность выздоровления.

Раздел 1. Бактериофаг у нормальных индивидов .	. 223
2. Бактериофаг при эпидемиях бациллярной дизентерии .	. 225
3. Бактериофаг при эпизоотиях тифа пернатых .	. 226
4. Бактериофагия при эпизоотиях геморрагической септицемии	. 228
5. Бактериофаг при эпизоотиях чумы среди грызунов	. 231
6. Бактериофаг при холерных эпидемиях	. 233
1. Перманентное присутствие бактериофага; вирулентного по отношению к холерному вибриону, в кишечнике	. 234
2. Изучение областей свободных от холеры	. 236
3. Изыскания в поселениях, расположенных в эпидемической зоне, но оставшихся пощаженными эпидемией	. 238
4. Обследование зараженных деревень	. 236
7. Заключение.	

Г Л А В А VII.

1. Произвольно вызванное угасание эпидемий: тиф пернатых	. 240
2. Азиатская холера	. 240
3. Заключение	. 251
Указатель литературы	. 254

16. ТИПЫ БАКТЕРИОФАГОВ.

Я считаю своевременным коснуться здесь вопроса о типах бактериофагов, т. к. он тесно связан с симбиотическим сожительством бактерий с фагами.

Как это мной было доказано в предыдущей главе — все бактериофаги, которые можно выделить в природе — принадлежат к единому „виду“, в точном ботаническом смысле этого слова.

Различия, существующие между расами, принадлежащими к различным разновидностям — зависят от вариаций, возникших за время разнообразных симбиотических контактов с теми или иными бактериями, контактов, постоянно осуществляющихся в природе.

Мы уже убедились в том, что в экспериментальных симбиозах претерпевает изменение не только компонент „бактерия“, но и компонент „бактериофаг“.

Вид „бактериофаг“ может быть уподоблен, в отношении поведения, — любому другому бактериальному виду, например, кишечной палочке. Изолируя большое количество штаммов *b. coli* из кишечного содержимого человека и различных животных и из патологического материала — легко убедиться в том, что их можно распределить по группам и подгруппам, причем каждая из подгрупп будет обладать самостоятельной антигенной функцией.

Однако, никто не сомневается в том, что все штаммы *b. coli* принадлежат к одному и тому же виду.

Это разделение на группы, обладающие независимой антигенной функцией, отмечается и у других бактериальных видов: стрептококков, пневмококков, менингококков.

Мы знаем, к тому же, что свойства этих групп не неизменны; Гриффит (Griffit), например, показал возможность превращения, путем изменения условий культивирования, пневмококка одной группы в пневмококка другой группы.

Байль (Bail), в 1933 году, выделил двух фагов, активных по отношению к палочке Флекснера; дальнейшее наблюдение показало ему, что вторичная культура, полученная под воздействием одного из этих фагов — была чувствительна по отношению к другому из них, потеряв чувствительность к исходному литическому началу.

Автор приходит к заключению, что он имеет дело с двумя различными типами фагов.

Ашешов (Asheshov), в 1929 году, применил понятие о типах к изучению рас фагов, активных в отношении холерного вибриона.

Он обратил внимание на то, что негативные колонии, полученные под воздействием различных холерных фагов, могли быть классифицированы по трем группам¹:

А—негативные колонии с четкими краями; В—негативные колонии с диффузными контурами; С—негативные колонии, окруженные ободком лизиса, обусловленного сецернируемым бактериофагным корпускулом растворимым лизином.

Ашешов констатировал, что вторичные культуры, появившиеся после лизирования культуры фагом типа А—претерпевали растворение под воздействием типов В или С; словом, что вторичная культура устойчива только по отношению к тому типу фага, который вызвал лизис первоначальной эмульсии².

Ашешов рекомендует свою методику для дифференцирования различных типов фага. Помимо него, ряд авторов, в особенности в лабораториях Индии, занимались этим вопросом. Привожу методику одного из них—Морисона (Morison).

Задача представляется в следующем виде: имея в руках активного против холеры фага—как определить, к какому типу он принадлежит? Для этого нужно обладать образцами трех, уже известных типов фага: А, В и С.

Затем, приступаем к формированию вторичных культур:

культура v (АВ) (предварительно устанавливается типичность вибриона, его принадлежность к гладкому (Smooth) варианту и асимбиотичность): к тонкой эмульсии холерного вибриона добавляется одна капля смеси двух (А и В) фагов; по окончании литического процесса, пробирка оставляется в термостате до образования вторичной культуры.

Культура v (АС): та же процедура повторяется, но по отношению к фагам типов А и С.

Культура v (ВС): та же методика, только с применением фагов типов В и С.

¹ Мы убедились, работая с разновидностями тифозных фагов, что морфология негативной колонии, рассматриваемая отдельно от остальных свойств фага — не может служить классификационным признаком. Мы неоднократно убеждались в том, что один и тот же фаг может обусловить возникновение негативных колоний различных типов.

² И это не вполне точно: существуют многочисленные исключения из этого правила и вирулентность фага, в каждом данном случае—играет очень заметную роль.

По методике, рекомендуемой Ашешовым, фаги испытываются на обычных резистентных культурах. Метод Морисона заслуживает предпочтения, т. к. он позволяет легче открывать новые типы.

Эти детали могут интересовать только узкий круг бактериологов, но я считаю нужным изложить их, т. к. они опубликованы лишь в специальных изданиях Индии.

Получив эти три вторичные культуры, берем чашку Петри с 3% агаром; на ее днище-нанесем жирным карандашом четыре прямоугольника, толщиной в сантиметр и длиной в семь сантиметров; между прямоугольниками оставить промежуток в пол сантиметра; в каждом прямоугольнике-отметить четыре точки, по средней линии, на равном расстоянии друг от друга.

	V	v BC	v AC	v AB
A	1.	5.	9.	13.
Б	2.	6.	10.	14.
С	3.	7.	11.	15.
Х	4.	8.	12.	16.

Затем, широкой платиновой петлей засеваются все четыре прямоугольника:

- 1 прямоугольник—чистой культурой вибриона (v)
- 2 " —одной из вышеописанных вторичных культур v(BC)
- 3 —вторичной культурой v (BC)
- 4 — " " v (AB)

Чашка ставится, для подсушивания, на 15' в термостат.

Затем, на поверхность засева калиброванной петлей (диаметром в 1 мм) против каждой из точек (обозначенных цифрами 1, 5, 9, 13) наносится по 1 капле фага А; Соответственно, на точки 2, 6, 10, 14—наносится фаг В; на точки 3, 7, 11, 15—фаг С; и на точки 4, 8, 12, 16—подлежащий классификации фаг Х.

Чашка ставится в термостат при 37°; через 12—18 часов—чтение результатов.

Вот что мы наблюдаем:

на прямоугольнике v; (чистая культура вибриона)—три негативных колоний, соответственно местам нанесения трех фагов: А, В, С; это—искусственные *plages vierges*;

На прямоугольнике v (BC)—только фаг типа А сумел развиваться (оголенное пятно только в области точки 5).

На прямоугольнике v (AC)—лысина лишь в области точки 10, где отложился фаг В.

На прямоугольнике v (AB)—лысина лишь в области точки 15, где отложился фаг С.

Что же касается бактериофага Х, то тут могут представиться следующие случаи:

если нигде не обнаруживается очага лизиса, то это означает, что взятый фаг лишен вирулентности по отношению к холерному вибриону; если очаги лизиса наблюдаются на прямоугольниках v и v (BC)—то мы имеем фаг А; искомый фаг принадлежит к типу В, если очаги лизиса наблюдаются на v и v (AC); и к типу С, если лизис возник на v и v (AB).

Может получиться еще следующий результат: лизис получается на всех четырех прямоугольниках, во всех точках, где нами наносился искомый фаг.

Тут возможна альтернатива: или взятый бактериофаг представляет собой смесь всех трех типов—или это—новый тип.

Так, Pasricha и De Monte обнаружили существование трех новых типов фага (DEF), а Vardon трех других (G,H,J).

Возможно, что этим не исчерпывается список типов фага.

Ясно, что указанный метод может быть применен для определения типов и других фагов: стафилококковых, стрептококковых, колифагов и т. д.

Морисону принадлежит чрезвычайно интересное наблюдение, касающееся жизнеспособности различных типов холерного фага. Оказывается, что, если смешать различные типы холерного фага и хранить их при обычной температуре в запаянных ампулах и исследовать эти ампулы через различные сроки—один или другой из этих трех типов (а, иногда, и все три)—гибнут. С другой стороны, ампулы оставленные мною Морисону в начале 1928 года, сохраняли еще, два года спустя, нетронутую первоначальную вирулентность.

Морисон установил, что различная жизнеспособность бактериофажных корпускулов объясняется тем, что, в первом случае, мы имеем дело с искусственной смесью фагов, („очищенных“ путем последовательных отливок от негативных колоний), тогда как во втором—в руках Морисона были продукты фильтрации естественного материала.

Этот факт чрезвычайно важен и заслуживает быть принятым во внимание при лечении или профилактике, проводимых помощью фага.

Морисон и Ашешов, независимо друг от друга, установили наличие шести типов дизентерийных фагов.

Сертич и Булгаков, в моей лаборатории, обследовали типы фагов, активных в отношении *b. Typhosus*.

Авторами выделено 300 рас, распределенных по 6 типам.

Ими было отобрано по одной расе каждого из этих шести типов; каждой из этих рас иммунизировались кролики (повторными интравенозными инъекциями).

Оказалось, что каждый тип обладает самостоятельной антигенной функцией: так фаг типа I инактивируется антисывороткой типа I, а не сыворотками остальных пяти типов.

Различные типы не одинаково часто встречаются: типы II и V являются наиболее редкими. Тип I является основным.

Бактериофаги, принадлежащие к определенному типу, представляют ряд аналогий в своих свойствах: так, например, тифофаги типа I, обычно, чрезвычайно активны, строго — моновалентны (действуют лишь на *b. Typhosus*), но менее устойчивы к воздействию тепла, чем тифофаги других типов. В свою очередь, бактериофаги других типов обладают, одновременно, вирулентностью против паратифозных, дизентерийных, кишечных палочек и т. д.

Достойно внимания, что каждый тип обладает свойственной только ему мозаикой вторичных вирулентностей.

Как пример, приведу таблицу свойств некоторых тифофагов изученных Сертичем и Булгаковым.

Типы тифофагов
(В. Сертич и Н. Булгаков)

1	2	3	4	5	6	7.	8	9	10	11	12	13
4a	0,6	3a	78°	90	105	—	++++	++++	—	—	IV	VI
4bc11	0,7	3a	78°	45	90	—	++++	++++	—	—	IV	VI
9gr	3,0	3n	66°	15	25	—	—	—	—	—	I	I
62cI	0,6	3n	74°	60	75	—	++++	++++	—	—	VI	VI
62cII	2,5	2n	68°	10	20	—	—	—	—	—	I	I
72II	2,5	3a	68°	10	20	—	—	—	—	—	I	I
116I	2,5	3n	68	10	20	—	—	—	—	—	I	I
BI	2,5	2n	66°	15	20	—	—	—	—	—	I	I
BIII	1,0	2z	66°	50	75	++++	++++	+	+++	++	III	III
BIV	1,6	2z	74°	40	180	++++	++++	++	+++	++	IV	IV
BVI	0,8	3a	78°	50	75	—	++++	++++	—	—	VI	VI
GI	0,5	3n	70°	240	?	++++	++++	++++	+++	++	IV	IV
GII	1,2	2n	66°	15	30	—	—	—	—	—	I	I
Gdm	0,6	2n	68°	40	180	++	++++	+	—	—	III	III
KOZ	1,0	2z	68°	45	60	++++	++++	+++	+++	++	III	IV
FTy	0,4	1z	72°	1080	60	++++	++++	+++	+++	++	IV	IV
tu	0,6	3a	80°	90	360	—	++++	++++	—	—	VI	VI

Все эти расы были культивированы за счет одного и того же штамма тифозной палочки (штамм В).

1. Порядковый номер фага.

2. Диаметр, в миллиметрах, негативных колоний.

3. Морфология „plage vierge“:

1. Негативные колонии, покрытые тонким слоем культуры.
2. Несколько вторичных колоний на негативном пятне.
3. Остающиеся навсегда голыми пятна:
 - а) кольцо вокруг пятна,
 - н) четкие края,
 - з) plaque, окруженная зоной лизина.
4. Температура инактивации фага.
5. Время, потребное на удвоение корпускулов.
6. Время в минутах, потребное для получения полного лизиса культуры.
7. Действие бактериофага на *b. paratyphi* В., штамм 7.
8. Действие фага на *b. paratyphi* А, штамм 8.
9. *b. paratyphi* В, штамм 122.
10. *b. Dysenteriae* Shiga.
11. „ „ „ *b. Coli*.
12. Серологический тип.
13. Типы фага, выведенные на основе изучения действия его на устойчивые штаммы.

Изыскания над типами фагов, только сейчас разрабатываемые, мне кажется, могут привести к чрезвычайно интересным результатам.

Каково происхождение этих типов?

Во время работы над возбудителем холеры, я обратил внимание на то, что некоторые расы фагов давали негативные колонии необычной морфологии, тогда как большинство выделенных литических начал давало типичные пятна, с резко очерченными контурами.

В зависимости от, различной для каждого данного случая вирулентности фага, негативные колонии с гладко-обрезанными краями—или остаются навсегда свободными от вторичных культур—или их поверхность покрывается вторичным ростом.

И лишь в последующие дни, у тех из выздоравливающих, у которых вторичная культура возникает *in vivo*¹ можно наблюдать появление бактериофагов других типов.

Эти факты мне кажутся поддающимися следующему объяснению: тип А является основным типом холерного фага; остальные—возникают в результате видоизменений свойств, обусловленных симбиозом с вибрионами. Мы видели из предшествовавшего, что,

¹ У 50% реконвалесцентов вибрионы исчезают окончательно из кишечника в результате бактериофагии *in vivo*. У остальных, у которых бактериофаг оказался менее активным, вибрионы, после периода отсутствия в 24 или 48 часов, снова появляются в испражнениях; на этот раз—вибрионы находятся в сожительстве с фагом. Но эта симбиотическая культура, как мне удалось доказать.—абсолютно авирулентна.

под воздействием симбиозов, могут вариировать свойства как бактерий, так и бактериофагов; вариации могут повести к тому, что бактерии изменяют свою групповую принадлежность, а бактериофаги — типовую.

Отсюда следует, что сожительство бактерии с фагом обуславливает возникновение бактериального мутанта; скачкообразное видоизменение свойств бактерий может лечь в основу возникновения новых микробных типов.

Равным образом, в указанном симбиозе претерпевает мутацию и бактериофаг; скачкообразная вариация свойств может и тут повести к формированию новых типов фага.

Для обоих компонентов, одни вариации свойств могут наступать чаще, чем другие, что сопряжено с частотой одних типов и редкостью других.

Для бактерий, как и для фагов, образование типов или групп обуславливается приспособлением к симбиотическим условиям существования¹.

Распределение пнеймококка по типам, есть, по всей вероятности, результат процесса мутаций, обусловленных симбиозом.

17. О ЯВЛЕНИИ МУТАЦИЙ.

Чрезвычайный интерес представляет следующий вопрос: не являются ли все возникающие в живом существе мутации последствием симбиозов? Мысль эта может показаться не вполне убедительной; попробуем разобраться в ней поближе.

Явление мутаций открыто де Фризом (de Vries), который установил, что определенное растение, *Oenothera Lamarckiana*, претерпевало, время от времени, скачкообразное изменение свойств, полностью передающееся последующим поколениям.

Этот частный пример оказался в дальнейшем не вполне доказательным, но существование самого явления мутаций несомненно и установлено с бесспорностью у целого ряда видов растений и даже животных.

Однако, у растений — наиболее четкие, наирезче выраженные примеры мутаций — обнаружены Ноэлем Бернаром и его последователями; во всех этих случаях — упомянутые авторы смогли доказать, что мутация была обусловлена симбиозом.

¹ Очевидно, дело идет о явлении общего порядка. Мы убедились в том, что, применяя подходящий детектор (аспорогенную расу *b. megatherium*), можно доказать, что все штаммы пнеймококка представляют собой симбиоз бактерии (неизвестной в ультрачистом состоянии) с бактериофагом.

За последние тридцать лет, феномен мутаций кропотливо изучался зоологами, после того, как было наблюде~~но~~ спонтанное возникновение мутаций у мухи, дрозофиллы. В этом последнем случае казалось, что мутации обуславливаются внутренними причинами, лежащими в самом существе животного; но, дальнейшими исследованиями установлено, что, под влиянием внешних воздействий (главным образом, лучистой энергии) возможно увеличить частоту мутаций у дрозофиллы.

Но та же лучистая энергия, приложенная к видам мухи, не мутирующим естественно, не давала абсолютно ~~никаких результатов~~.

В настоящее время, общеизвестно, что некоторые ботанические виды (например, картофель) представляют собой бесспорные симбиозы растения и вируса.

Нам известно и то, что существуют и симбиозы животных с вирусами.

Не входя в далеко ведущие детали, я лишь укажу, что при наследственном сифилисе мы находимся в присутствии симбиоза человека и трепонемы и наблюдаем модификацию характеров (деформация скелета, Гутчинсоновы зубы).

Нет ничего недопустимого в том, чтобы, в частном случае мухи-дрозифиллы—мы встретились с явлением симбиоза дрозофиллы и вируса, откуда вытекает возникновение возможности мутаций.

Приведу следующий факт: у дрозофилл довольно часты т. н. „летальные мутации“.

В большинстве случаев гибель зародыша вызывается развитием злокачественных опухолей; в других случаях, наблюдают у гусениц или взрослых насекомых—доброкачественные или злокачественные опухоли (Hark, Wilson и др).

Нам кажется более правдоподобным ~~допущение~~ нарушение равновесия в симбиозе в пользу паразитического вируса, чем привлечение, в целях объяснения указанных явлений,—гипотетического летального гена.

Симбиоз бактерия-бактериофаг представляет собой наиболее простой и легкий для изучения случай.

Полное овладение этим явлением могло бы послужить к выяснению общих вопросов проблемы мутаций, имеющей капитальное значение с точки зрения научного материализма.

